Die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen

Ein experimenteller und kritischer Beitrag zur Kenntnis des Übertragungsproblems der Trypanosomen überhaupt

Mit besonderer Berücksichtigung der parasitischen Protozoen einiger Haustierflöhe

Von

Wilhelm Nöller

Tierarzt

Mit 8 Abbildungen im Text und 2 Tafeln

Abdruck aus:
„Archiv für Protistenkunde". Band 25 u. 34





Jena
Verlag von Gustav Fischer
1914



Gustav Fischer, Verlagsbuchhandlung, Jena.

Herausgegeben von

Dr. M. Hartmann und **Dr. S. von Prowazek**
Berlin Hamburg.

Das Archiv für Protistenkunde ist eine rein wissenschaftliche Zeitschrift, die alle Zweige des sich immer mehr ausdehnenden Gebietes der Einzelligen in gleichmäßiger Weise berücksichtigt und daher den Zoologen und Botaniker, den Zell- und Gewebeforscher, den Anatomen und Physiologen, den Pathologen und Hygieniker in gleicher Weise angeht.

Das Archiv für Protistenkunde bringt in erster Linie Originaluntersuchungen über alle Gruppen der Protophyten und Protozoen, von den Bakterien bis zu den Infusorien, soweit sie die Biologie dieser Organismen fördern.

Um den Überblick über das Gebiet zu erleichtern und die Wechselbeziehungen zwischen den verschiedenen Zweigen der Protistenforschung zu pflegen, werden in einem referierenden Teil zusammenfassende Übersichten und Literaturberichte von berufener Feder gegeben.

Das Archiv für Protistenkunde erscheint in zwanglosen Heften; je 3 Hefte bilden einen Band.

Bis März 1914 ist erschienen:

1902—1908: Bd. 1—13. Preis eines Bandes = 24 Mark.
1909: Bd. 14—15. Preis eines Bandes = 24 Mk., Bd. 16 = 32 Mk., Bd. 17 = 29 Mk.
1910: Bd. 18 = 21 Mk., Bd. 19 = 25 Mk., Bd. 20 = 30 Mk.
1911: Bd. 21 = 29 Mk., Bd. 22 = 34 Mk., Bd. 23 = 25 Mk., Bd. 24 = 31 Mk.
1912: Bd. 25 = 27 Mk., Bd. 26 = 43 Mk., Bd. 27 = 27 Mk.
1913: Bd. 28 = 34 Mk., Bd. 29 = 31 Mk., Bd. 30 = 42 Mk. 50 Pf., Bd. 31 = 37 Mk.
1914: Bd. 32 = 37 Mk., Bd. 33 = 29 Mk.

Gesamtpreis für Band 1—33: 923 Mark 50 Pf.

—— **Supplement I. Festband zum 25jährigen Professoren-Jubiläum des Herrn Geh. Hofrat Prof. Dr. Richard Hertwig.** Mit 19 Tafeln und 56 Abbildungen im Text. 1907. (VIII und 293 S.) Preis: 20 Mark.

Inhalt: **Die Fortpflanzung der Opalinen.** Von Eugen Neresheimer. Mit 3 Tafeln und 2 Abbildungen im Text. — **Depression der Protozoenzelle und der Geschlechtszellen der Metazoen.** Von Methodi Popoff. Mit 1 Tafel und 5 Abbildungen im Text. — **Lebensgeschichte der Mastigamöben Mastigella vitrea n. sp. und Mastigina setosa n. sp.** Von Richard Goldschmidt. Mit 5 Tafeln und 20 Abbildungen im Text. — **Observations on the Protozoa in the Intestine of Mice.** Von C. M. Wenyon. Mit 3 Tafeln und 1 Abbildung im Text. — **Beobachtungen über vegetative, degenerative und germinative Vorgänge bei den Gregarinen des Mehlwurmdarms.** Von Sergius Kuschakewitsch. Mit 4 Tafeln und 12 Abbildungen im Text. — **Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. V:** Amöbenstudien. Von F. Doflein. Mit 3 Tafeln und 16 Abbildungen im Text.

—— **General-Register zu Bd. 1—20 und Supplement 1 (1902—1910)** zusammengestellt von Dr. **Rh. Erdmann** und **H. Sachs.** (II, 95 S.) 1912. Preis: 5 Mark.

Das Generalregister wird neben seiner Bedeutung als Wegweiser für die Abonnenten zugleich ein Repertorium über Literatur zur Protistenkunde sein, da es die größte Zahl der Arbeiten nachweist, die in dieser Zentralstelle der Protistenkunde im letzten Jahrzehnt erschienen sind.



...le. Eine Darstellung der Naturgeschichte der Protozoen mit besonderer Berück-...en Formen. Von Dr. **F. Doflein,** a. o. Prof. Dritte, stark vermehrte Auflage. ...) 1911. Preis: 26 Mark 50 Pf., geb. 29 Mark.

Die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen

Ein experimenteller und kritischer Beitrag zur Kenntnis des Übertragungsproblems der Trypanosomen überhaupt

Mit besonderer Berücksichtigung der parasitischen Protozoen einiger Haustierflöhe

Von

Wilhelm Nöller
Tierarzt



Mit 8 Abbildungen im Text und 2 Tafeln

Abdruck aus:
„Archiv für Protistenkunde". Band 25 u. 34



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1914

Vorwort.

Die Trypanosomen bilden in weiten tropischen Länderbezirken die wichtigsten Krankheitserreger, welche an manchen Orten eine Ansiedelung und Viehzucht gänzlich unmöglich machen. Bei ihrer Bekämpfung bildet die Kenntnis ihrer Verbreitung eine unerläßliche Vorbedingung. Die Übertragung, die zumeist durch blutsaugende Insekten erfolgt, setzt der Erforschung viele Schwierigkeiten entgegen, weil sich in den heimischen Laboratorien die Überträger der pathogenen Trypanosomen meist nicht halten lassen. Wenn auch neuerdings durch die vorwiegend aus Ärzten bestehenden Kommissionen in den Seuchengebieten die Übertragungsweise der pathogenen Trypanosomen an Ort und Stelle untersucht und weitgehend geklärt worden ist, so sind doch auch die Beiträge wertvoll, die sich in unserem Klima an den Rattentrypanosomen mit ihren natürlichen Überträgern gewinnen lassen, weil ja Forschungen an diesem Objekte die Grundlage für die Forschungen an den pathogenen Trypanosomen gebildet haben und noch bilden. Deshalb erlaube ich mir unter dem Titel „Die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen, ein experimenteller und kritischer Beitrag zur Kenntnis des Übertragungsproblems der Trypanosomen überhaupt“ meine Arbeit der Öffentlichkeit zu übergeben in der Hoffnung, daß sie denen, die sich mit Übertragungsversuchen bei Trypanosomen und Leishmanien beschäftigen wollen, als brauchbares Nachschlagebuch dienen möge.

Der erste Teil ist unter dem Titel „Die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen durch Flöhe“ im 25. Bande des Archivs für Protistenkunde im Mai 1912 erschienen. Dieser Teil war im Protozoenlaboratorium des Kgl. Institutes für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ angefertigt worden. Der zweite Teil, welcher eine Ergänzung und Erweiterung jener Studien bildet, ist im Pathologischen Institute der Kgl. Tierärztlichen Hochschule zu München fertiggestellt worden.



Inhaltsverzeichnis.



I. Teil.

Die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen durch Flöhe.

Einleitung.

Trotz der großen Sorgfalt, mit der man in den letzten Jahren die Übertragung verschiedener Trypanosomen studiert hat, ist es bis jetzt nur bei wenigen gelungen, den Übertragungsmechanismus lückenlos aufzudecken. So ist bei *Trypanosoma lewisi* Kent, über dessen Übertragung schon eine ganze Reihe von Arbeiten erschienen sind, der normale Infektionsmodus vollkommen unbekannt geblieben. Deshalb erschien es mir ratsam, die bisher aufgestellten Theorien experimentell nachzuprüfen und den Übertragungsmechanismus genau zu untersuchen.

Die Überträger von *Trypanosoma lewisi* Kent.

Die Übertragung von *Trypanosoma lewisi* durch Rattenläuse (*Haematopinus spinulosus* Burm.) ist von Nuttall, Novy und Baldrey nachgewiesen worden. Viel leichter als durch Läuse geschieht die Übertragung durch Flöhe. Rabinowitsch und Kempner erzielten zuerst Infektion durch Flöhe (Art der Flöhe nicht angegeben). Nuttall erzielte eine Übertragung durch *Ceratophyllus fasciatus* Bosc und *Ctenophthalmus agyrtes* Heller. Swellengrebel und Strickland nahmen an, daß vielleicht manche von den crithidiaförmigen Flagellaten, deren Ruhestadien sie im Hundefloh (*Ctenocephalus canis* Curtis) fanden, Entwicklungsstadien von *Trypanosoma lewisi* darstellen. Einen Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme haben sie nicht gebracht. Swingle beobachtete eine Entwicklung der

Rattentrypanosomen in einer *Ceratophyllus*-Art, die dem *Ceratophyllus lucifer* ROTHSCH. nahesteht und in *Pulex* spec., vielleicht *Pulex brasiliensis* BAKER. Mir ist es gelungen, durch den Hundefloh *Trypanosoma lewisi* zu übertragen. Außerdem habe ich in *Ctenopsylla* (*Typhlopsylla*) *musculi* DUGÈS die Entwicklung der Rattentrypanosomen gefunden. Zweifellos werden weitere Untersuchungen zeigen, daß alle auf den Ratten vorkommenden Puliciden imstande sind, die Rattentrypanosomen zu übertragen.

Die bisher angestellten Übertragungsversuche.

Eine Reihe von Arbeiten beschäftigen sich damit, zu ermitteln, wie die Übertragung durch Flöhe und Läuse stattfindet. v. PROWAZEK glaubte, in der Rattenlaus eine geschlechtliche Entwicklung der Trypanosomen nachweisen zu können. Er vermutete, gestützt auf das — allerdings seltene — Vorkommen von Trypanosomen im Cölom der Laus, daß die Trypanosomen durch das dorsale Blutgefäß in die Nähe des Saugorgans gelangen, in dieses eindringen und beim Saugakte in die Wunde eingeführt werden. Indessen sind die Tatsachen, die er für seine Anschauung beibringt, keineswegs überzeugend. Er hat auch die Richtigkeit seiner Ansicht nicht durch Experimente beweisen können. In den Fäces der Läuse hat er keine Trypanosomen gesehen, obgleich er angibt, daß gerade im Enddarme die Hauptansammlungen der Trypanosomen anzutreffen sind. BALDREY hat Experimente angestellt, die zeigen, daß die Laus nach dem infizierenden Saugakte eine nicht infektiöse Periode von 5—10 Tagen zeigt, nach deren Ablauf sie erst infizieren kann. Daraus geht hervor, daß die Übertragung keine rein mechanische ist. Da er zu seinen Versuchen jedesmal eine größere Anzahl von Läusen benutzte, ist es ihm nicht gelungen, den Infektionsmodus festzustellen. Es bleibt neben der Möglichkeit der Infektion durch den Saugakt die der Infektion per os (Verschlucken der Läuse) und der Infektion durch die Exkremente der Läuse bestehen. MANTEUFEL hat mit Läusefäces keine Ratten infizieren können. GONDER hat neuerdings nachgewiesen, daß sich auch während der Periode, während der die Läuse nach BALDREY in der Regel nicht infizieren, in den Läusen infektiöse Trypanosomen vorfinden.

Was den Infektionsmodus der Flöhe anbetrifft, so haben schon RABINOWITSCH und KEMPNER gezeigt, daß Flöhe, die man von infizierten Ratten auf gesunde setzt, diese infizieren. Diese Versuche sind von NUTTALL u. a. wiederholt worden. Dabei zeigte sich, daß

Flöhe viel leichter und sicherer infizieren als Läuse. Swellengrebel und Strickland bemühten sich, zu ermitteln, auf welche Weise die Flöhe die Ratten infizieren. Sie erbrachten den Nachweis, daß eine mechanische Infektion vorkommen kann, wenn Flöhe während des Saugens auf einer infizierten Ratte unterbrochen werden und unmittelbar darauf den Saugakt auf einer gesunden Ratte fortsetzen. Beiden Forschern gelang es nicht, durch den Stich von Flöhen, die längere Zeit vorher an einer infizierten Ratte gesogen hatten, gesunde Ratten zu infizieren, während eine Infektion eintrat, wenn sie diese Flöhe frei auf die Ratte setzten. Sie heben mit Nachdruck hervor, daß sich die Trypanosomen fast ausschließlich in den hinteren Darmabschnitten festsetzen und vermehren. Sie haben an die Möglichkeit einer Infektion durch die Exkremente des Flohes, die auf die Haut fallen, gedacht, doch haben sie diese Möglichkeit als unwahrscheinlich hingestellt, da es ihnen nicht gelungen ist, während des Saugaktes bei den Rattenflöhen Fäcesabgabe zu beobachten. Auch haben sie in den Exkrementen der Flöhe die Trypanosomen nur ausnahmsweise nachweisen können. Minchin und Thomson haben dann festgestellt, daß Rattenflöhe, die sie an einer infizierten Ratte nur einmal saugen ließen, nicht die Ratten infizierten, auf die sie die Flöhe an den nächsten Tagen setzten, sondern daß erst die Ratten infiziert wurden, auf die sie die Flöhe mindestens 6—7 Tage nach dem infizierenden Saugakte setzten. Darauf stellte Strickland Versuche an, durch die er exakt nachwies, daß sich die Ratten leicht infizieren, wenn sie infizierte Flöhe verschlucken. Diesen Weg hielt Strickland für die normale Infektion. Auf diese Arbeit erwiderten Minchin und Thomson, daß es ihnen gelungen ist, durch einen Floh mehrere Ratten hintereinander zu infizieren. Für den Infektionsweg halten sie die Regurgitation von Trypanosomen in die Stichwunde. In der nächsten Veröffentlichung beschreiben sie eine intracelluläre Vermehrungsweise der Rattentrypanosomen, die in den Epithelzellen des Flohmagens 12—36 Stunden nach dem infizierenden Saugakte stattfindet. Sie berichten, daß diese Vermehrungsweise nur bei wenigen Flöhen vorkommt. Sie halten sie für wesentlich für das Zustandekommen einer dauernden Infektion des Flohes, indem nur diejenigen Flöhe eine bleibende Infektion erwerben sollen, in deren Magenepithel die Trypanosomen diese Vermehrungsweise durchgemacht haben.

Bei ihren Übertragungsversuchen haben Michnin und Thomson die Flöhe frei auf die Ratten gesetzt und auf diesen einen oder mehrere Tage gelassen. Darum ist ihnen der Beweis für die In-

fektion durch den Stechakt nicht geglückt. Swellengrebel und Strickland ließen die Flöhe durch Gaze stechen. Auch bei dieser zweifellos schon besseren Versuchsanordnung genießen die Flöhe noch so viel Freiheit, daß sie dem Experimentator viel Ärger bereiten können. Da es mit Hilfe dieser Methoden schwer oder unmöglich war, die Frage nach dem Infektionsmodus zu klären, sann ich darauf, meine Versuche so anzuordnen, daß jede Zweideutigkeit in den Ergebnissen ausgeschlossen war. In der Tat ist es mir durch die Einführung einer bisher noch nie bei Übertragungsversuchen angewandten Methode geglückt, die Frage nach dem Infektionswege sicher zu entscheiden. Auch gelingt es mit meiner Methode, die Verwechslung der Trypanosomenstadien im Floh mit den bei Flöhen parasitierenden Leptomonaden (und Crithidien) mit Sicherheit auszuscheiden.

Die benutzten Flöhe.

Um meine Übertragungsversuche ohne Schwierigkeiten ausführen zu können, sah ich mich in den Stallungen des Instituts für Infektionskrankheiten nach einem Floh um, der stets in großer Menge zu sammeln war. Die Ratten zeigten meist gar keine oder nur wenige Flöhe der Species *Ceratophyllus fasciatus* Bosc und *Ctenopsylla musculi* Dugès. Nur auf einigen Ratten fand ich größere Mengen von *Ctenopsylla musculi* Dug. Diese waren dann fast am ganzen Körper, vor allem aber am Kopfe mit Flohfäces bedeckt. Abgesehen von den großen Haustieren Pferd, Rind und Schaf zeigten fast alle Versuchstiere ziemlich viel Flöhe. Ich sammelte eine große Menge von Affen, Hunden, Kaninchen und Meerschweinchen ab und übergab sie Herrn Dr. B. Harms, der sie mir als Hundeflöhe (*Ctenocephalus canis* Curtis = *Pulex serraticeps* Taschenberg) bestimmte. Da ich bei der Untersuchung des Hamstertrypanosomas beobachtet hatte, daß es sich im Hundefloh gut entwickelt, war ich überzeugt, daß auch *Trypanosoma lewisi* durch ihn übertragen werden könnte, und ich beschloß, meine Versuche mit dem Hundefloh anzustelleu.

Ehe ich meine Versuche begann, präparierte ich über 250 Hundeflöhe, um mir Klarheit zu verschaffen, ob die Flöhe schon zum Teil mit trypanosomenähnlichen Flagellaten infiziert sind.

Einfangen der Flöhe.

Da es beim Präparieren der Flöhe sehr wichtig ist, möglichst große Exemplare mit prall gefülltem Darme zu erhalten, so habe

ich stets nur frisch vom lebenden Tiere abgesammelte Flöhe verwendet. Sammelt man die Flöhe vom erkalteten Tiere ab oder liest man die beim Chloroformieren abgefallenen Flöhe auf, so fällt sofort auf, daß diese Exemplare viel kleiner und unscheinbarer sind als die vom lebenden Tiere abgesammelten. Die eine Erklärung für diese Tatsache hat Harms gegeben, indem er beobachtete, daß die weiblichen Flöhe auf dem erkalteten Kadaver ihre Eier ablegen, ehe sie ihn verlassen. Außerdem ist noch daran schuld, daß die Flöhe auf dem kalten Kadaver oder unter dem Einflusse des Chloroforms nicht nur nicht Blut saugen können, sondern vielleicht noch ihren Darminhalt schnell zu entleeren scheinen. Als den günstigsten Jagdgrund für Flöhe habe ich junge oder ausgewachsene, hellgefärbte Hunde benutzt. Durch die auf dem ganzen Felle, besonders aber hinter den Ohren und im Nacken des Hundes verstreuten Kotklümpchen der Flöhe ist von vornherein leicht zu erkennen, ob viele Flöhe vorhanden sind. War dies der Fall, so fing ich die Flöhe nach Zurückstreichen der Haare mit einer Pinzette mit runder, breiter Spitze und warf sie in die vorrätigen Reagenzgläser. Nur dann, wenn keine Hunde mit einer genügenden Anzahl von Flöhen vorhanden waren, suchte ich Kaninchen ab, auf denen die Flöhe auf dem Kopfe zwischen den Ohren und im Genick oft in solchen Mengen auftreten, daß jene Stellen ganz kahl und mit Flöhen und Flohkot bedeckt sind.

Anatomie des Darmkanals des Hundeflohes.

Der Verdauungstraktus beginnt mit den durch die neueren Forschungen der Aphanipterologen genau studierten Mund- und Saugwerkzeugen. An diese setzt sich das mit Chitin ausgekleidete Stomadaeum an, das aus Ösophagus und Proventriculus besteht. Der Ösophagus bildet eine enge Röhre, die durch die drei Thoracalsegmente hindurch in das Abdomen zieht und im ersten Abdominalsegmente in den Proventriculus (= Vormagen, Kaumagen) mündet. Dieser ist glockenförmig. Er hat eine starke Muscularis und ist innen mit einer großen Anzahl von regelmäßig angeordneten braunen Chitinspangen besetzt. Darum erscheint er am herauspräparierten Darme als ein mit bloßem Auge deutlich sichtbares dunkles Pünktchen. An ihn schließt sich der Ventriculus (Magen, Verdauungsmagen, Mitteldarm, Chylusdarm) an. Dieser ist entodermaler Abkunft und deshalb nicht chitinisiert. Seine Tunica elastico-muscularis ist von außerordentlich langen Epithelzellen (den „Zotten-

zellen“ nach LANDOIS) besetzt, die die Verdauung besorgen. Die abgestoßenen Zellen werden von den Prolifierationsstellen aus bald ersetzt. Mit der Valvula pylorica, in die die vier Malpighischen Gefäße einmünden, beginnt das ectodermale und deshalb mit Chitinbelag versehene Proctodaeum. Dieser Teil ist für die Flagellaten im Floh von größter Bedeutung, weshalb ich auf seinen Bau besonders eingehe. An den Pylorus schließt sich der sog. Dünndarm an, der dem Ileum und Colon anderer Insekten entspricht und in das stark erweiterte, blasenförmige Rectum einmündet. Ileum und Colon bilden eine lange, verhältnismäßig enge Röhre, deren Wand häufig Längsfalten zeigt. Beide Abschnitte sind nicht deutlich voneinander verschieden und gehen ohne Grenze ineinander über. Das Ileum bildet bei seinem Ansatze an die enge Pylorusklappe, die sich als ein in das Lumen vorspringender Wulst zeigt, eine gewölbartige Ausbuchtung, deren Wände von dem Nahrungsstrome fast nicht getroffen werden. Die verdauten Blutmengen werden stoßweise aus dem Ventriculus durch die Valvula pylorica in das Ileum ergossen und von dem Ileum und Colon durch eine lange, nach hinten fortschreitende Dilatationswelle in das Rectum geführt, ein Vorgang, den man am frisch herauspräparierten Flohdarm bei Betrachtung ohne Deckglas in einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung bei schwacher (75 ×) Vergrößerung häufig verfolgen kann. Das Rectum bildet eine erweiterte Blase mit stark muskulöser Wand und mündet hinter der Sinnesplatte. In sein Lumen hinein hängen sechs eichelförmige Gebilde, die sog. „Rectaldrüsen“ (LANDOIS) oder Rectalorgane.

Von blasenförmigen Speicheldrüsen sind zwei Paare vorhanden, die ungefähr im ersten Abdominalsegmente auf dem Ventriculus liegen. Jedes Paar schickt einen langen, engen Ausführungsgang durch den Thorax nach vorne.

Die Lage der Eingeweide stellt sich wie folgt. Der Proventriculus liegt im ersten Abdominalsegmente in Kopfhöhe. Von ihm aus zieht der Ventriculus in der Nähe des unteren Abdominalrandes hinab und endet hier im Bereiche des sechsten oder siebenten Abdominalsegmentes. Ileum und Colon steigen in einem Bogen dorsal hinauf zur Rectalblase, die an gut vollgesogenen Flöhen deutlich mit bloßem Auge zu erkennen ist. Das kurze Rectum mündet im Chitinstücke des zehnten Abdominalsegmentes, also unmittelbar unter der Sinnesplatte, die vom Tergit des neunten Abdominalsegmentes getragen wird. Den dorsalen Raum über dem Darmkanale füllen die Geschlechtsdrüsen, das Herz und die blasenförmigen Speicheldrüsen aus.

Die Präparation der Flöhe.

Da die Präparation nur an großen, prall mit Nahrung gefüllten Flöhen leicht vorzunehmen ist, benutzte ich, wie gesagt, nur soeben vom lebenden, nicht chloroformierten Hunde abgefangene Flöhe. Da außerdem die Hundeflohweibchen fast doppelt so groß sind wie die Männchen, habe ich fast ausschließlich Weibchen präpariert. Als einzige Instrumente zur Präparation sind einige feine, scharf geschliffene Messer mit scharfer Spitze nötig, doch dürften nach Art der Mückenmesser zugeschliffene, ca. 1 mm dicke Präpariernadeln noch bessere Dienste leisten. Zuerst versuchte ich, den Floh nach Abtrennung von Kopf und Thorax in einem Tröpfchen physiologischer Kochsalzlösung unter dem Präpariermikroskop so zu präparieren, daß ich sorgfältig ein Chitinsegment nach dem anderen mit dem Messerchen, das ich in der rechten Hand hielt, abzupfte, während ich mit dem Messerchen der linken Hand das Tergit des sechsten oder siebenten Segmentes festhielt. Doch gelingt es auf diese Weise nur schwer, den Darmkanal ohne Verletzung herauszupräparieren. Nach vielen Versuchen fand ich folgende Methode, die ein viel sicheres Ergebnis liefert und viel weniger Zeit erfordert. Ich legte den in 30 proz. Alkohol betäubten Floh in ein Tröpfchen physiologischer Kochsalzlösung auf einen Objektträger. Diesen brachte ich auf eine weiße Glasscheibe. Dann präparierte ich mit bloßem Auge. Der erste Schnitt wird mit schräg auf den Objektträger aufgesetzten Messern, deren Schneiden sich kreuzen, zwischen Thorax und Abdomen so geführt, daß beide Teile voneinander getrennt werden. Kopf und Thorax sind einer weiteren Präparation schwer zugänglich. Deshalb tut man gut, diesen Teil, falls man ihn untersuchen will, sofort zu fixieren und später einzubetten. Ist der Thorax abgetrennt, so quillt in der Regel aus dem Abdomen schon der Proventriculus (mit einem Stücke des Ösophagus) und der vordere Teil des deutlich erkennbaren Ventriculus hervor. Ist das nicht der Fall, so bringt ein schwacher Druck mit einer Messerspitze auf den Raum dorsal über dem hinteren Teil des Ventriculus, also auf das fünfte bis siebente Tergit, die vorderen Darmabschnitte mit den vier blasenförmigen Speicheldrüsen und in der Regel noch die Ovarien, die jenen Raum ausfüllen, zum Hervorquellen. Ehe der Darm herausgezogen werden kann, muß das Rectum kurz vor dem Anus durchschnitten werden, weil sonst das Ileum kurz hinter der Valvula pylorica oder das Colon vor der Ansatzstelle am Rectum

abreißt. Um die Rectalblase mit den sechs Rectalorganen nicht zu zerschneiden, muß der Schnitt unmittelbar vor der mit bloßem Auge deutlich sichtbaren Sinnesplatte ausgeführt werden. Man schneidet der Basis der Sinnesplatte parallel unmittelbar vor ihr mit gekreuzten Messerchen so, daß das neunte und zehnte Segment abgtrennt werden. Dann hält man mit der Spitze des Messerchens der linken Hand das Abdomen auf dem Objektträger fest und zieht mit der Spitze des rechten Messers, die man vorsichtig auf den Ventriculus oder Proventriculus aufsetzt, den Darmkanal nach vorn heraus. Dem Ventriculus liegen in der Regel die beiden Paare der blasenförmigen Speicheldrüsen auf. Da fast stets die Eiröhren mit den vorderen Darmabschnitten aus dem Abdomen hervorquellen, so genügt es meist schon, diese mit dem Messerchen der rechten Hand aus dem Abdomen nach vorn herauszuziehen. In der Regel zieht sich mit ihnen der ganze Darmkanal heraus. In diesem Falle setzt man sich nicht der Gefahr aus, den Ventriculus mit der Messerspitze zu verletzen.

Sollte ja einmal das Rectum beim Herausziehen abreißen, so gelingt es leicht, dieses durch Abreißen des siebenten und achten Abdominalsegmentes und durch Auseinanderziehen der Chitinteile freizulegen. Bei einiger Übung erfordert die Präparation eines Flohes auf diese Weise höchstens drei bis fünf Minuten.

Technik beim Einbetten und beim Herstellen der Ausstriche.

Sehr oft ist es rätlich, den herauspräparierten Darmtractus im ganzen einzubetten und zu schneiden. Dann habe ich 24 Stunden in Sublimatalkohol fixiert, in Jodalkohol ausgewaschen, entwässert und nach ungefähr halbstündigem Verweilen in Xylol mit erwärmten Pipetten den Flohdarm in Xylol-Paraffin, weiches Paraffin und dann hartes Paraffin übergeführt. In der Regel genügt ein halbstündiges Verweilen in jeder Station im Thermostaten bei 60° C. Ist jedoch der Ventriculus stark mit Blut gefüllt, so muß man ihn mindestens eine Stunde in Xylol und ebensolange in Xylolparaffin liegen lassen. Die Blöcke stellte ich in Uhrschälchen her, wobei ich den Darm aufs Sorgfältigste orientierte. Bettet man chitinhaltige Teile ein, so ist es rätlich, an Stelle des Xylols Chloroform zu verwenden und das Objekt je 12—24 Stunden in den einzelnen Paraffinstufen erweilen zu lassen. Bei der Herstellung von Feuchtausstrichen eines Darmteiles müssen von diesem die anderen Darmabschnitte sorgfältig abgeschnitten werden. Dann bringt man den betreffenden

Darmabschnitt in ein möglichst kleines Tröpfchen physiologischer Kochsalzlösung auf ein Deckglas, zerzupft ihn etwas mit den Präpariermesserchen, legt ein zweites Deckglas auf und kontrolliert unter dem Mikroskope, ob die Parasiten zwischen den Deckgläschen genügend verteilt sind. Ist das nicht der Fall, so genügt ein leichtes Zusammendrücken oder geringes Verschieben der Deckgläser gegeneinander. Ist das geschehen, so zieht man beide Deckgläser schnell voneinander ab und läßt sie sofort mit der Schichtseite nach unten auf den heißen Sublimatalkohol fallen. Bei der Herstellung von Trockenausstrichen müssen ebenso alle überflüssigen Darmabschnitte abgetrennt werden, und der Ausstrich muß mit möglichst wenig physiologischer Kochsalzlösung hergestellt werden, damit der Ausstrich augenblicklich trocknet. Das Verfahren, den ganzen Floh zu zerzupfen und so einen Ausstrich herzustellen, ist selbst zu Diagnosezwecken absolut unbrauchbar, da oft der winzige Enddarm, in dem die Flagellaten meist sitzen, unverletzt bleibt und so bei stark infizierten Flöhen im Ausstriche keine Flagellaten aufzufinden sind.

Leptomonas spec., ein parasitischer Flagellat des Hundeflohes.

Von großem Interesse für meine Übertragungsversuche war die Tatsache, daß von zweihundert im November und Dezember von Hunden abgesammelten Hundeflöhen vierundzwanzig Exemplare im Enddarme einen Flagellaten der Gattung *Leptomonas* beherbergten. Swellengrebel und Strickland haben die ovalen Ruhestadien des Flagellaten aufgefunden und abgebildet, ohne jedoch weiter zu untersuchen, ob es sich um spezifische Flohparasiten handelt.

Morphologie.

Die Flagellaten haben in der Regel eine runde oder ovale Gestalt (Fig. 1). Die ovalen Formen messen ungefähr 3—4 μ in der Länge und 2—3 μ in der Breite; die runden Formen haben einen durchschnittlichen Durchmesser von 2—4 μ. Selten kommen Formen mit zugespitztem Hinterende vor. Diese sind dann meist etwas länger (5—6 μ) und schmaler. Der Kern ist ein typischer Caryosomkern mit wenig Außenchromatin. Sein Durchmesser beträgt 1 μ. Vor ihm liegt der quergestellte Blepharoplast, von dem die Geißel entspringt. Ihre Länge beträgt 2,5—7 μ. Die runden Formen zeigen

oft keine Geißel. Die Ausbildung einer undulierenden Membran habe ich bei diesem Flagellaten nie gefunden. Doch lasse ich es dahingestellt, ob der Flagellat nur das ovale Ruhestadium eines



Fig. 1. *Leptomonas* spec. aus dem Hundefloh, feucht fixiert. HEIDENHAIN 1950×.

schlankeren, beweglichen Parasiten darstellt oder ob er von *Crithidia pulicis* PORTER zu scheiden ist. In diese Fragen können erst exakte Infektionsversuche Klarheit bringen.

Sitz der Flagellaten im Floh.

Der Parasit sitzt ebenso wie die Trypanosomen beim Floh im Enddarme. Bei spärlicher Infektion ist er vorzugsweise hinter dem Pylorus in dem erweiterten Anfangsteile des Ileums anzutreffen. Bei fortgeschrittener Infektion bildet er eine dichte Auskleidung des gesamten Dünndarms und des Rectums (Fig. 2). Er bildet dann auf der Dünndarmwand oft eine so dicke Schicht, daß das ganze Lumen von der Flagellatenmasse ausgefüllt wird. Beim Pressen des Darmes lösen sich die Flagellaten nicht einzeln, sondern in ganzen Fetzen und Klumpen los, die aus Dutzenden bis Hunderten der ovalen Formen bestehen. Die Geißeln sind in den Klumpen zentral gerichtet und verflochten, so daß eine dichte Rosette zustande kommt. Bei starker Infektion kann man schon mit schwacher Vergrößerung (75 ×) erkennen, ob der eben herauspräparierte Darm infiziert ist, da die Parasiten durch die durchsichtigen Enddarmwände hindurch deutlich erkennbar sind. Das Gebiet des Parasiten reicht bis zur Einmündung der MALPIGHI'schen Gefäße. Nur einmal habe ich im Ventriculus einen Parasitenhaufen gesehen.[1])



Fig. 2.
Schnitt durch den Dünndarm eines mit *Leptomonas* spec. infizierten Hundeflohes. 750×.
(Phot. von Prof. ZETTNOW.)

[1]) Von anderen parasitischen Protozoen findet sich beim Hundefloh sehr häufig (in 50–95 Proz.) die von MINCHIN entdeckte *Malpighiella refringens*. Außer-

Ist *Leptomonas* spec. ein spezifischer Flohparasit?

Als ich in den Stallungen des Institutes für Infektionskrankheiten den Flagellaten aufgefunden hatte, wurde mir der Einwand gemacht, der Parasit könne von einigen Kalaazarhunden stammen und die Entwicklungsform von *Leishmania* darstellen. Um diesen Einwand zu widerlegen, fing ich eine große Anzahl von Hundeflöhen in einem Stalle, in dem keine Kalaazarhunde untergebracht waren, und in der Tat fand sich der Parasit auch hier, während unter siebzehn von einem Kalaazarhunde abgesammelten Flöhen keiner Flagellaten zeigte. Den sichersten Beweis dafür, daß der Flagellat mit den Kalaazarhunden nicht in Beziehung stand, lieferte mir die Untersuchung von Hundeflöhen aus der Poliklinik der Königl. Tierärztl. Hochschule. Herrn Professor Regenbogen bin ich für die Erlaubnis zur Benutzung der Hunde und zur Sektion vergifteter Exemplare zum Danke verpflichtet. Von 25 im Dezember in der Tierärztlichen Hochschule abgesammelten Hundeflöhen zeigten nicht weniger als sechs eine Infektion mit den Flagellaten. Der hohe Prozentsatz (12$^0/_0$ aller Hundeflöhe zeigten im November und Dezember die Flagellaten) spricht deutlich gegen den Einwurf, die Flagellaten seien als Entwicklungsstadien von Trypanosomen aufzufassen. Es ist undenkbar, daß jeder achte Hundefloh schon einmal auf einer mit Trypanosomen infizierten Ratte Blut gesogen hat. Auch sprechen gegen die Zugehörigkeit der Flagellaten zum Rattentrypanosoma seine morphologischen Merkmale. Der einzige noch mögliche Einwurf war der, daß unsere Hunde zum großen Teile an einer latenten Trypanosomiasis oder Leishmaniosis leiden könnten. Darum machte ich folgenden Versuch: Ich spritzte den

dem habe ich bei ca. 6 Proz. der von Hunden abgesammelten Hundeflöhe einen Vertreter der Gattung *Nosema* gefunden, dem ich den Namen *Nosema pulicis* gegeben habe. Seine ovalen Sporen sind 2,5—5 μ lang und 1,5—2 μ breit. Die Länge des vollkommen ausgeschleuderten Polfadens beträgt 65—85 μ. (Bei meinem Vortrage vor der Berl. Mikrobiol. Gesellschaft am 13. Febr. 1912 habe ich einen viel kleineren Wert angegeben, weil mir damals Sporen mit nur teilweise ausgeschnellten Polfäden vorlagen.) Der Parasit befällt hauptsächlich die Epithelzellen des Ventriculus, die blasenförmigen Speicheldrüsen, die Malpighi'schen Gefäße und den Fettkörper. Bei weiblichen Flöhen befällt der Parasit mit Vorliebe auch die Eiröhren und dringt hier in die Eizellen ein, so daß eine germinative Infektion statthat. Trotz des massenhaften Auftretens im Mitteldarmepithel sind die Flöhe ziemlich unempfindlich gegen den Parasiten; sie können bei starker Infektion noch über einen Monat leben.

gut zerzupften, in Bouillon aufgeschwemmten Darm eines stark infizierten Flohes am 15. XII. 11 einem jungen Hunde intraperitoneal ein. Am 4. II. 12 entnahm ich aus dem Herzen des chloroformierten Hundes mit steriler Spritze unter Zusatz von Citratbouillon Blut und beimpfte damit vier Kaninchenblutagarröhrchen. Auch brachte ich in mehrere Kulturröhrchen steril entnommene Stückchen von Milz und Knochenmark der Tibia. Doch habe ich weder in den Blut- und Organausstrichen Flagellaten gefunden, noch sind in einem der Kulturröhrchen Flagellaten gewachsen.

Bemerkungen zu den *Leishmania*-Untersuchungen von Sangiorgi und Basile.

Sangiorgi und Basile haben in Hundeflöhen von Hunden mit *Leishmania*-Infektion Flagellaten gefunden, die sie als Entwicklungsstadien der Kalaazarparasiten ansehen. Dafür, daß der Hundefloh die *Leishmania* von Hund zu Hund übertragen kann, hat Basile durch ein wohl einwandfreies Experiment den Beweis erbracht. Was aber die Flagellaten anbelangt, die er im Hundefloh und Menschenfloh gefunden hat, so ist deren Zugehörigkeit zur *Leishmania* nach den außerordentlich exakten Untersuchungen von A. Porter am Menschenfloh und nach meinen Ergebnissen am Hundefloh außerordentlich zweifelhaft. Morphologisch stimmen die von Basile abgebildeten Flagellaten aus dem Hundefloh vollkommen mit den von mir beim Hundefloh gefundenen überein. Es ist zu hoffen, daß bessere experimentelle und morphologische Untersuchungen bald sicherere Ergebnisse liefern.

Vorsichtsmaßregeln,

die bisher bei Übertragungsversuchen angewandt wurden, um Verwechslungen von Trypanosomenstadien mit Insektenflagellaten zu vermeiden.

Um bei den Übertragungsversuchen sicher zu sein, daß die benutzten Insekten nicht schon früher einmal das Blut eines infizierten Tieres aufgenommen haben, legten bisher die meisten Forscher (Kleine, Chagas, Minchin) großes Gewicht darauf, nur gezüchtete Insekten zu verwenden. In der Tat genügt diese Vorsichtsmaßregel, um eine Infektion mit Wirbeltiertrypanosomen mit Sicherheit auszuschließen. Sie versagt dagegen ganz, wenn es sich darum handelt, eine Verquickung von spezifischen Insektenflagellaten mit Trypano-

somenstadien zu vermeiden. A. Porter hat exakt bewiesen, daß auch in Blutsaugern Insektenflagellaten vorkommen, die mit Trypanosomen nichts zu tun haben. Auch beim Hundefloh ist das nach meinen Untersuchungen der Fall. Da die Ruhestadien dieser Flagellaten nach A. Porter schon die Larven der Flöhe infizieren können, so entspricht die Versuchsanordnung von Minchin und Thomson, die in einem Rattenkäfige gezüchtete Flöhe benutzten, nicht den Anforderungen.

Ich habe auf die Verwendung gezüchteter Flöhe verzichten können, da es mir meine Methode ermöglicht, jeden benutzten Floh bei Lebzeiten so genau zu untersuchen, daß ich eine Infektion mit Flagellaten mit Sicherheit feststellen kann.

Der Flohzirkus.

Bei der Suche nach einer Methode für meine Übertragungsversuche kam mir der Umstand zu Hilfe, daß es ein Insekt gibt, das einer primitiven Dressur von gewissen Leuten unterworfen wird. Das ist der Menschenfloh, der im Flohzirkus auf Jahrmärkten und Festplätzen den Schaulustigen seine Künste vorführen muß. In der Tat brachte mich der Besuch eines Flohzirkus auf den Gedanken, jene „Dressurmethode“ für meine Übertragungsversuche zu benutzen. Der wesentliche Umstand, der es ermöglicht, den Floh ganz nach Art dressierter Tiere zu behandeln, ist der: der Menschenfloh (— denn nur solche werden vom Bändiger wegen ihres „stattlichen, dunkelbraunen Kleides“ benutzt, während der „häßliche, gelbe“ Hundefloh nicht in Achtung steht —) wird an einen feinen 0,1 mm dicken Draht gefesselt, dessen beide Enden zu einem Drahte spiralig zusammengerollt sind, während die Knickungsöse zwischen dem ersten und zweiten Beinpaare um den Thorax des Flohes gelegt ist. Diese Fesselung ermöglicht alle die Kunststücke, die im Flohzirkus die Zuschauer ergötzen. Natürlich müssen die Bändiger mit dem Nahrungsbedürfnisse der Flöhe vertraut sein. Auf meine Erkundigungen hin erfuhr ich, daß die Flöhe einmal täglich auf dem Arme eines Menschen Blut saugen dürfen. Das aus den beiden Enden der Öse bestehende, zusammengerollte, ungefähr 3—5 cm lange, freie Drahtstück wird zweimal winkelig geknickt, so daß der Floh wie an einem Gestelle befestigt in Ruhe saugen kann. Mir gelang es, einige gefesselte Flohzirkusflöhe zu erhalten. An diesen Flöhen, die ich mehrere Wochen lang Tag für Tag auf meinem Arme Blut saugen ließ, stellte ich Beobachtungen an, die für meine Versuche

an Hundeflöhen von Wichtigkeit sind. Der Floh, der einen Tag lang gehungert hat, sticht im warmen Zimmer (+ 20° C) in der Regel sofort ein; er klammert sich mit dem vorderen Beinpaare in der Haut fest, benutzt das zweite Beinpaar zum Stützen, während er das dritte Beinpaar schräg nach hinten in die Luft streckt. Dabei bildet seine Rückenlinie mit der Hautfläche, auf der er einsticht, einen Winkel von 35—50°. Sobald der Einstich erfolgt ist, macht der Ventriculus lebhafte peristaltische Bewegungen, deren Wellen deutlich zu verfolgen sind, wenn man den saugenden Floh gegen eine starke Lichtquelle betrachtet. Die Wellen folgen in kurzen Abständen aufeinander und verlaufen meist von vorn nach hinten; doch kommen auch umgekehrt verlaufende Kontraktionswellen vor. 5—15 Minuten nach dem Einstiche beginnt in der Regel die Haut um die Einstichstelle anzuschwellen, und es erscheint die bekannte Flohstichrötung. Während des Saugaktes gibt der Floh ebensoviel oder mehr Fäces ab, als er während der folgenden 24 Stunden abzugeben pflegt. Beim täglich gefütterten Floh erscheinen die ersten Fäces oft schon 2 Min. nach dem Einstiche, manchmal aber erst nach Verlauf einer $^1/_2$ Stunde. Die ersten Kotklümpchen sind schwarz und fest und fallen unmittelbar hinter dem Floh auf die Haut nieder. Die folgenden Fäcesströpfchen werden rötlich und sind von weicherer Konsistenz. Endlich erscheinen an der Analöffnung blutrote Tröpfchen, die sich bei mikroskopischer Prüfung als zum kleineren Anteil aus unregelmäßig geformten Bluttrümmern, zum größeren aber schon aus zusammengeklumpten und einzelnen unveränderten Erythrocyten mit Beimischung einzelner Leucocyten zusammengesetzt erweisen. Diese flüssigen Bluttröpfchen bleiben entweder in Kugelform auf der Analöffnung liegen, oder sie werden mit solcher Gewalt ausgespritzt, daß sie zerstäuben und erst 1—2 cm hinter dem Floh auf die Haut niederfallen. Oft erscheinen die ersten hellroten Bluttröpfchen schon 5 Min. nach dem Einstiche. Während eines Saugaktes von einer $^1/_2$ Stunde habe ich manchmal nur 5, meist jedoch 10—20 Defäkationen beim Menschenfloh gezählt. Läßt man den Menschenfloh täglich 30 Min. saugen, so fühlt er sich sehr wohl. Mäßige Kälte erträgt er leicht, doch soll er gegen Hitze empfindlich sein. Hungerperioden von 2—3 tägiger Dauer erträgt er ohne Schaden. Bezüglich der Lebensdauer der Flohzirkusflöhe zeigt sich, daß dem Floh die Fesselung gar nicht schadet. Ich habe einen gefesselten Floh, den der Besitzer für einen ganz alten erklärte, noch mehrere Wochen lang am Leben erhalten. Erst als ich ihn 5 Tage hungern ließ, verendete er.

Übertragung der Fesselungsmethode auf den Hundefloh.

Nachdem ich am Menschenfloh genug Beobachtungen gesammelt hatte, versuchte ich, die Flohzirkusmethode bei meinen Übertragungsversuchen bei den Hundeflöhen anzuwenden. Dabei verhehlte ich mir nicht, daß zwischen dem Hundefloh und dem Menschenfloh in biologischer Hinsicht ein großer Unterschied besteht. Während der Menschenfloh ein temporärer Parasit seines Wirtes ist, ist der Hundefloh viel enger an sein Wirtstier gebunden. Er verbringt auf ihm seine ganze Lebenszeit und verläßt es nicht einmal bei der Eiablage. Außerdem ist zu beachten, daß der Hundefloh im Gegensatze zum Menschenfloh meist an dicht behaarten Hautstellen sticht. Die erste Schwierigkeit, die ich zu überwinden hatte, war das Fesseln der Flöhe. Wie die Flohzirkusbesitzer dabei verfahren, ist mir bisher unbekannt geblieben, da ich auf meine Anfrage hin nur die Versicherung erhielt, daß ich das doch nicht fertigbringen würde. Zunächst ließ ich mir Silberdraht von 0,15 mm Dicke herstellen. Von diesem schnitt ich mir Stücke von 10 cm Länge. Diese bog ich in ihrer Mitte um eine mittelstarke Präpariernadel und drehte dann zwischen Daumen und Zeigefinger der rechten Hand die Enden zu einem feinen Drahtseile zusammen, so daß also eine Öse mit ungefähr 5 cm langem Stiele entstand. Die Hundeflöhe suchte ich stets vom lebenden Hunde ab, um große, vollgesogene Exemplare zu erhalten. Die Männchen benutzte ich wegen ihrer geringen Größe nicht. Von den gefangenen Weibchen suchte ich mir die größten aus und warf sie auf ein mit Wasser gefülltes Becken, um ihr Fortspringen zu verhindern. Dann nahm ich einen Floh von der Wasserfläche zwischen Zeigefinger und Daumen der linken Hand und steckte seinen Kopf durch die Drahtöse, die ich in der rechten Hand hielt. Die Größe der Drahtöse muß, wenn das Festmachen gelingen soll, gerade so abgepaßt sein, daß es dem Floh eben gelingt, das erste Beinpaar durch die übergestülpte Öse durchzustecken. Ist das geschehen, so sucht sich der Floh durch lebhaftes Bewegen der Beine zu befreien. Ehe ihm das aber gelingt, finde ich bequem Zeit, den Stiel der Öse in die linke Hand zu nehmen und mit einer mit der rechten Hand gefaßten Pinzette einen sanften Druck auf das Stielende der Öse auszuüben. Dadurch wird die Öse enger, und der Floh ist gefesselt und steht in meiner Gewalt, sofern der Druck mit der Pinzette nicht so stark war, daß der Floh an seinen Folgen stirbt. Die außerordentlich stark entwickelten Coxae des ersten

Beinpaares hindern den Floh daran, nach hinten aus der Öse herauszukriechen. Um nun den Floh bequem auf die Bauchfläche der aufgespannten Ratte aufsetzen zu können, bog ich den Draht zu einem Gestelle, das den Floh in Saugstellung auf der Ratte festhält. Zu diesem Zwecke drehte ich den Ösenstiel beim Herstellen der Öse nur so weit zusammen, daß die beiden Drahtenden mindestens 1 cm weit freiblieben. Diese Enden spreizte ich nun auseinander. Darauf bog ich den Ösenstiel kurz über der Öse einmal rechtwinklig um und ein zweites Mal an einer ca. 0,8 cm von der ersten Knickung nach den Drahtenden zu gelegenen Stelle. Dann gab ich dem Stücke zwischen den Drahtenden und der zweiten Winkelung noch eine flache Wölbung. Auf diese Weise entstehen kleine Saugböckchen, die man nur auf die betreffende Stelle der aufgespannten Ratte aufzusetzen braucht, an der der Floh einstechen soll (Fig. 3).

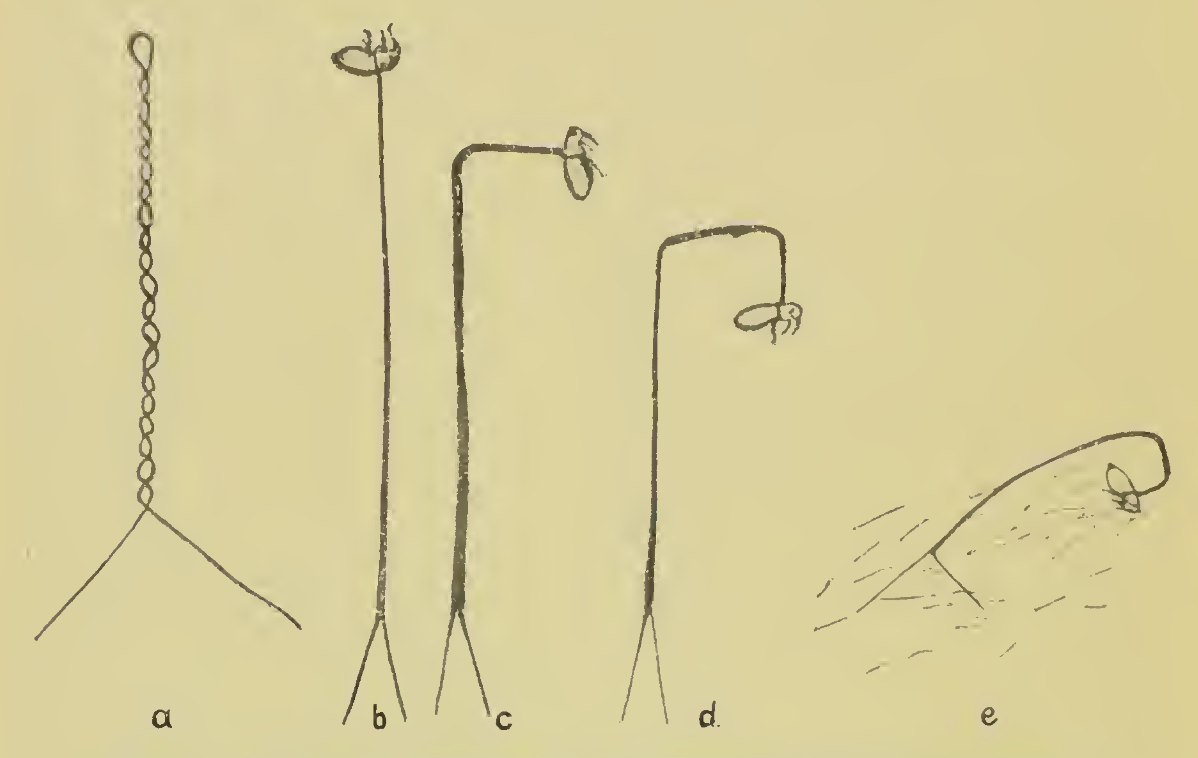


Fig. 3. Schema zur Erläuterung der Herstellung der Saugböckchen. a Silberdrahtöse. b Öse mit Floh. c Öse nach der ersten Knickung. d Fast fertiges Saugböckchen. e Fertiges Saugböckchen schräg von der Seite gesehen.

Als ich die ersten Flöhe glücklich gefesselt hatte, versuchte ich sie auf einer in der bekannten Weise aufgespannten Ratte saugen zu lassen. Es war mir daran gelegen, die Haare nicht abzurasieren, um jede Verletzung der Haut zu vermeiden. Höchstens schnitt ich die Haare etwas kürzer. Ich setzte die Saugböckchen so auf, daß die Flöhe den Haaren parallel auf die Haut kamen, wie sie ja normalerweise beim Saugen sitzen. Obgleich ich auch bei der

Winkelung der Saugböckchen berücksichtigt hatte, daß der Hundefloh meist steiler sitzt als der Menschenfloh (50—80°), so zeigten die Flöhe große Unruhe beim Saugen, da die etwas dickere Schlinge die Beweglichkeit des ersten Beinpaares beim Hineinkriechen zwischen die Haare und beim Anklammern zu hemmen schien. Deshalb schien es mir geboten, die Flöhe weiter hinten zu fesseln als den Menschenfloh. Ich fesselte nun eine Anzahl Hundeflöhe so, daß ich durch die (etwas weitere) Öse den Floh nicht nur mit dem ersten Beinpaare, sondern auch noch mit dem zweiten hindurchkriechen ließ und dann durch Pinzettendruck die Öse verengerte. Die Probe auf der Ratte ergab, daß sich diese Flöhe sofort zwischen die Haare wühlten und einstachen, sobald ich die Saugböckchen aufgesetzt hatte. Die Fesselung erwies sich als sicher und fest, so daß es keinem Floh gelingt, sich aus der gut sitzenden Öse zu befreien, wofern diese nicht durch häufiges Verbiegen gelockert wird. Hiermit waren die technischen Schwierigkeiten überwunden, und ich konnte die Nahrungsaufnahme des Flohes studieren.

Aufbewahrung und Nahrungsaufnahme der Hundeflöhe.

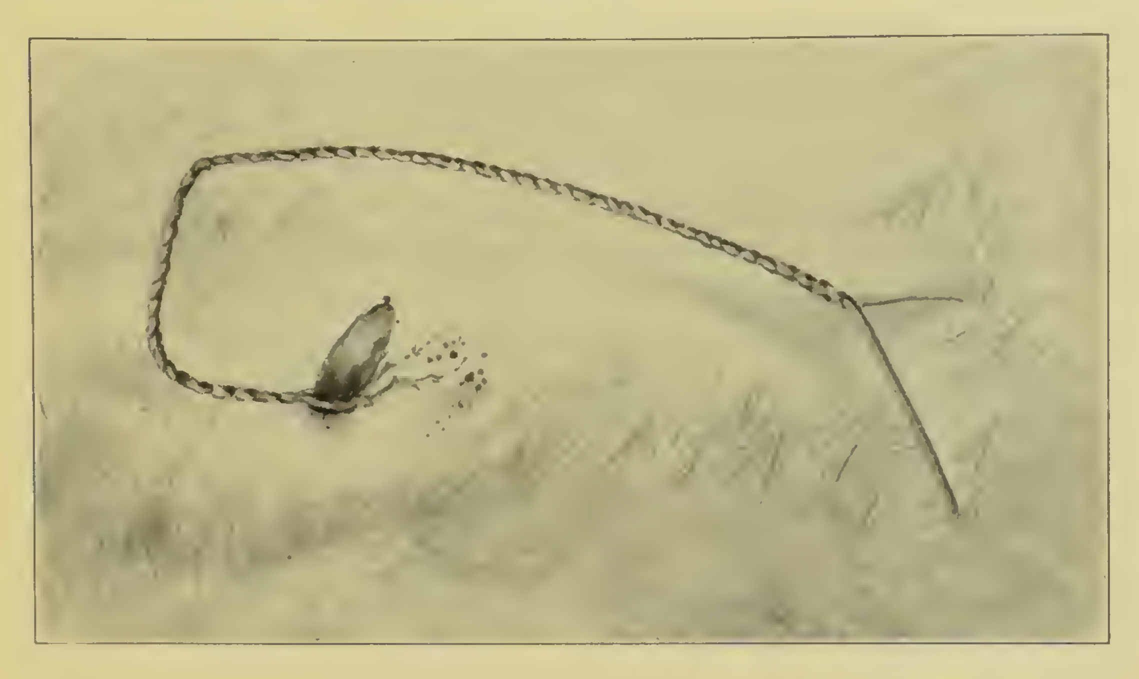
Alle meine Versuche habe ich so ausgeführt, daß ich die Flöhe im geheizten Laboratorium (+ 18 bis + 20° C) auf die in der gebräuchlichen Weise aufgespannten Ratten setzte und saugen ließ. Nach der Abnahme brachte ich die Flöhe in das Brutzimmer, dessen Temperatur durchschnittlich + 26° C betrug. (Es kamen Schwankungen zwischen + 24° C und + 30° C während der Versuche vor.) Zur Aufbewahrung der gefesselten Flöhe dienten mir hohe Petrischalen ohne Deckel. In sie brachte ich eine Schicht weißer, entfetteter Watte, setzte den Floh mit seinem Saugböckchen darauf und legte eine zweite Wattelage darüber. Die Watte ist im Flohzirkus als Aufbewahrungsmittel für die Flöhe gebräuchlich, weil sich in ihr der Floh am wohlsten fühlt, da er in ihr seinem Bedürfnis, sich an Haaren festzuklammern und sich zwischen die Haare hineinzuwühlen, am besten nachkommen kann. Für mich war die Verwendung weißer Watte von Vorteil, da ich die Fäcesabgabe nach dem Saugakte gut kontrollieren konnte, wenn ich die Watte während des Saugaktes regelmäßig erneuerte. Beim gleichzeitigen Experimentieren mit mehreren Flöhen versah ich die Aufbewahrungsschälchen, in die stets nur ein Floh gesetzt wurde, mit der Nummer, die der betreffende Versuchsfloh im Protokolle führte.

Beim Saugenlassen zeigte sich, daß die Flöhe bei niedriger

Temperatur der Umgebung (unter + 13° C) nur ungern oder überhaupt nicht einstachen. Dies ist nicht zu verwundern, da sich die Haut der Ratten, die fest aufgespannt auf den Gestellen liegen, stark abkühlt und da die Blutzirkulation stark gehemmt wird. Auch stechen andere blutsaugende Insekten mit Vorliebe bei hoher Temperatur. Sank die Temperatur im Laboratorium unter + 18° C, so ließ ich die Flöhe im Brutzimmer (+ 26° C) saugen. Bei + 18° C bis + 30° C erfolgte das Einstechen der Hundeflöhe, die ich Tag für Tag saugen ließ, sofort nach dem Aufsetzen auf die Ratte. Die Haare schnitt ich bei jungen Ratten gar nicht, bei größeren Ratten nur so weit ab, daß sie noch 2—3 mm lang blieben. Auf ganz kahlen Stellen scheint der Hundefloh nur ungern zu saugen. Durch ununterbrochene Beobachtung suchte ich festzustellen, wie lange der Floh Nahrung aufzunehmen pflegt. Dabei zeigte sich, daß die Flöhe mit Behagen mehrere Stunden lang auf derselben Stelle ununterbrochen sogen. Einmal beobachtete ich, daß ein Hundefloh 2 Stunden nach dem Aufsetzen unruhig wurde und den Saugakt abbrach. Meist jedoch dauert der Saugakt der Hundeflöhe länger. Ich habe mehrfach beobachtet, daß sie über 4 Stunden sogen. Auf Grund dieser Beobachtungen ließ ich bei meinen Versuchen die Flöhe meist $2^1/_2$—$3^1/_2$ Stunden auf den Ratten saugen. Nur wenn ich wenig Zeit hatte, nahm ich sie nach kürzerer Zeit von der Ratte ab.

Ebenso wie die Dauer des Saugaktes weicht meist auch die Zeit der Defäkation beim Hundefloh beträchtlich vom Menschenfloh ab. Der Hundefloh als stationärer Parasit saugt viel länger und gibt seine Fäces viel später ab als der Menschenfloh. In seltenen Fällen habe ich bei einigen Hundeflöhen beobachtet, daß die ersten festen, schwarzen schon 10 Minuten nach dem Einstiche abgegeben wurden, die ersten roten, flüssigen Fäces nach weiteren 15 Minuten. Meist jedoch beginnt die Defäkation erst nach Verlauf einer halben Stunde, oft erst nach zweistündigem Saugen. Den ersten schwarzen Fäcesklümpchen folgen dann meist in kurzen Abständen erst einige dunkelrote, dann hellrote flüssige Tröpfchen. In der Regel gibt der Hundefloh während eines Saugaktes 7—15 mal Fäces ab. Die ersten schwarzen Fäces fallen beim Entleeren meist sofort ab, während die späteren flüssigen Tröpfchen meist einige Minuten auf der Analöffnung haften, ein Umstand, der für meine Versuche von Wichtigkeit ist. Gewaltsames Ausstoßen und Zerstäuben der Fäcesströpfchen kommt viel seltener vor als beim Menschenfloh. Freilich lassen sich über die Defäkation keine sicheren Regeln aufstellen, da sich die

Hundeflöhe bei ganz gleicher Behandlung individuell sehr verschieden verhalten. So gibt es Flöhe, die während des ganzen Saugaktes nur 2—4 winzige, feste Fäcesklümpchen absetzen. Solche Exemplare sind für die Kotuntersuchung ungünstig und unbrauchbar. Deshalb tut man gut, sie bald auszuschalten.



Krause gez.

Fig. 4. Gefesselter Floh beim Saugen. Vergrößert.

Um mit Sicherheit festzustellen, ob die zusammengeballten und einzelnen Erythrocyten, die sich in den roten, flüssigen Fäces finden, von dem betreffenden Saugakte oder von dem vorhergehenden herstammen, setzte ich einen Floh, der noch nicht auf infizierten Ratten gesogen hatte, auf eine stark mit *Trypanosoma lewisi* infizierte Ratte. In dem ersten roten Fäceströpfchen, das der Floh nach halbstündigem Saugakt abgab, fanden sich neben den Erythrocyten viele lebhaft bewegliche Rattentrypanosomen.

Meine Übertragungsversuche.

Um mir zunächst Klarheit zu verschaffen, ob der Hundefloh imstande ist, das Rattentrypanosoma zu übertragen, stellte ich einen Vorversuch an. Die gefesselten Hundeflöhe 1, 2 und 2a setzte ich am 6. XII. 11 auf eine stark mit Rattentrypanosomen infizierte Ratte. Floh 1 ließ ich 55 Minuten, Floh 2 und 2a 2 Stunden 8 Minuten saugen. Floh 2a zerlegte ich unmittelbar nach der Abnahme von der Ratte. Ein beim Abnehmen abgegebenes Fäceströpfchen ent-

hielt bereits Trypanosomen. Im herauspräparierten Darme wimmelten alle Abschnitte von Trypanosomen. Am 7. XII. 11 setzte ich die Flöhe 1 und 2 nochmals auf die stark infizierte Ratte, zusammen mit den frisch gefesselten Flöhen 3, 4, 5 und 6, und ließ alle sechs Flöhe 2 Stunden 30 Minuten saugen. Am 8. XII. 11 ließ ich Floh 3, 4, 5 und 6 nochmals auf der infizierten Ratte saugen, während ich Floh 1 und 2 schon auf eine junge, nicht infizierte weiße Ratte setzte. Am 9. XII. 11 war Floh 6 gestorben und so eingetrocknet, daß seine Präparation unmöglich war. Floh 1 und 2 saugten nun jeden Tag auf einer frischen nicht infizierten Ratte, Floh 3, 4 und 5 auf einer anderen. Die Dauer des Saugaktes betrug durchschnittlich 2—3 Stunden. Am 11. XII. 11 tötete und präparierte ich Floh 3 nach dem Saugakte. Schon mit schwacher Vergrößerung (75×) zeigte sich, daß die Wände des Dünndarmes mit einem lückenlosen Rasen von Flagellaten bedeckt waren. Im Ventriculus fand ich keine Flagellaten. Von dem abgetrennten Enddarme stellte ich mir ein Trockenpräparat her, das ich nach Giemsa färbte. Die Flagellaten, die ich darin fand und die ich mit schwacher Vergrößerung bei ihrer ganz mit der Hundefloh-*Leptomonas* übereinstimmenden Lage nicht von dieser hatte unterscheiden können, erwiesen sich bei starker Vergrößerung als ganz von der *Leptomonas* verschieden. Fast alle zeigten ausgesprochene Trypanosomenform, die aber von der Gestalt des Rattentrypanosomas im Blute stark abwich. Sie waren viel dicker geworden. Das Hinterende war abgerundet. Der Blepharoplast lag oft ganz in der Nähe des Hinterendes, häufig auch nahe am Kerne. Die undulierende Membran zeigte eine starke Entwicklung. Neben diesen plumperen Formen fanden sich noch ganz schmale, dünne Trypanosomen, wie sie von manchen Autoren als „männliche" Trypanosomen beschrieben werden. — Am 16. XII. 11 brach ich den Versuch ab, nachdem ich Floh 1, 2, 4 und 5 auf der nicht infizierten Ratte 33 3 Stunden 10 Minuten hatte saugen lassen. Die Flöhe präparierte ich 2—4 Stunden nach der Abnahme von der Ratte. Bei allen vier Flöhen zeigte sich bei der Untersuchung mit schwacher Vergrößerung (75×) dasselbe Bild. Von der Einmündung der Malpighischen Gefäße ab bis in das Rectum waren die Enddarmwände mit einem dichten, lückenlosen Flagellatenpolster ausgekleidet. Im Ventriculus ließen sich keine Flagellaten nachweisen. Von jedem Flohdarme fertigte ich zwei Präparate an, eins vom Ventriculus und eins vom Enddarme. Die Flagellaten des Enddarmes erwiesen sich bei Floh 2, 4 und 5 als die typischen „kleinen" Trypanosomen, wie sie Swellengrebel und Strickland beschrieben

haben. Nur bei Floh 1 fand ich *Leptomonas* spec. Leider zerbrach das Präparat während des Differenzierens, so daß es mir nicht möglich war, festzustellen, ob bei diesem Floh außerdem kleine Trypanosomen vorhanden waren. Von allen Ratten, auf denen die Flöhe gesogen hatten, zeigte nur Ratte 33 am 23. XII. 11 Trypanosomen im Blute. Am 21. XII. 11 war ihr Blut noch parasitenfrei gewesen.

Der Vorversuch hatte gezeigt, daß der Hundefloh imstande ist, die Rattentrypanosomen zu übertragen, nachdem er vor mehr als einer Woche zum letzten Male auf einer infizierten Ratte Blut aufgenommen hat. Indessen war der Versuch insofern nicht günstig, indem ich nicht feststellen konnte, welcher von den Flöhen die Ratte infiziert hatte. Auch hatte ich die Ratten vorher nicht von ihrem Ungeziefer befreit. Ebenso blieb auch die Frage ungeklärt, ob die Flöhe durch den Stechakt oder auf eine andere Weise die Ratte infiziert hatten.

Sofort nach Abschluß des Vorversuches stellte ich drei Parallelversuche mit allen notwendigen Vorsichtsmaßregeln an. Ich benutzte, um eine Spontaninfektion auszuschließen, nur junge, halbwüchsige weiße und gescheckte Ratten. Diese ließ ich mir jedesmal in Vorräten von je 10—20 Exemplaren bringen. Ehe ich sie benutzte, wurden sie einer gründlichen Waschung mit Sabadillessig unterzogen. Der Sabadillessig tötet die Läuse und Flöhe sicher ab. Es ist mir bisher nie gelungen, auf einer mit Sabadillessig gewaschenen Ratte Flöhe nachzuweisen. Dagegen scheint er auf die Eier der Läuse nicht absolut tödlich zu wirken. In einem Falle fand ich nämlich auf einer gewaschenen Ratte später einige Läuse. Die Methode Minchin's, die Ratte vor Beginn des Versuches zu chloroformieren, habe ich nicht angewandt, weil sie die Lauseier gar nicht schädigt und weil sie selbst für Flöhe unsicher bleibt. Ich habe mehrfach an Hamstern beobachtet, daß beim zweiten Chloroformieren weitere Flöhe abfielen, nachdem beim ersten Male kurz vorher die Mehrzahl abgefallen war. Außerdem erholen sich chloroformierte Flöhe verhältnismäßig leicht. Die gewaschenen Ratten wurden in ein großes Vorratsglas gesetzt, das vorher sorgfältig mit heißem Wasser gereinigt und mit frischen Sägespänen versehen worden war. Von jedem Vorrate ließ ich einige Ratten übrig, die als Kontrollratten dienen mußten. Vor dem Aufspannen wurde das Blut jeder Ratte sorgfältig auf Trypanosomen untersucht.

Zwei am 23. XII. 11 gefesselte Hundeflöhe, Floh 12 und 18, ließ ich am 24. XII. 11 1 Stunde 35 Minuten lang auf einer mit

Rattentrypanosomen stark infizierten Ratte saugen. An jedem folgenden Tage erhielt jeder Floh eine frische Ratte, auf der er 2—4 Stunden saugen durfte. So wurde der Versuch vom 25. XII. 11 bis zum 13. I. 12 durchgeführt. Obgleich die Flöhe so vierzig Ratten gestochen hatten, wurde keine infiziert. Den Versuch mit Floh 18 brach ich am 16. I. 12 ab, den Floh 12 dagegen behielt ich zu einer neuen Versuchsserie, auf die ich zurückkommen werde. Erst bei der dritten Parallelserie hatte ich ein positives Ergebnis. Der Floh 11 hatte am 23. XII. 11 an einer Naganaratte gesogen. An den folgenden Tagen setzte ich ihn auf nichtinfizierte Ratten, bei denen er keine Infektion verursachte. Am 28. XII. 11 ließ ich ihn auf einer mit *Trypanosma lewisi* stark infizierten Ratte 3 Stunden 5 Minuten saugen. An den 3 folgenden Tagen sog er auf einer Ratte, ohne sie zu infizieren. Am 1. I. 12 und 2. I. 12 sog er auf der Ratte 36, die er infizierte. Von den weiteren Ratten, auf die ich ihn vom 3. I. bis 13. I. 12 aufsetzte, infizierte er nur die Ratte 76, auf der er am 10. I. 12 2 Stunden 10 Minuten gesogen hatte.

Dieses spärliche Ergebnis machte mich stutzig und ich begann daran zu zweifeln, daß der Saugakt den normalen Infektionsmodus darstellt. Gegen die Annahme einer Regurgitation von seiten Minchin's und Thomson's sprachen folgende Tatsachen, die ich inzwischen an vielen anderen Versuchsflöhen festgestellt hatte. Bei allen Flöhen, die ich mehrere Tage nach dem infizierenden Saugakte getötet hatte, nachdem sie in der Zwischenzeit nur Blut von nicht infizierten Ratten aufgenommen hatten, fand ich die Trypanosomen nur im Enddarme. Eine Regurgitation erschien also von vornherein sehr unwahrscheinlich. Schon Swellengrebel und Strickland haben mit Nachdruck auf diesen Punkt hingewiesen. Minchin und Thomson ist es freilich geglückt, in mehreren Fällen bei infektiösen Flöhen Flagellaten im Ventriculus nachzuweisen. Trotzdem ist damit keine Regurgitation wahrscheinlich gemacht. Die beiden Forscher haben nie eine Infektion durch die dem infizierenden Saugakte folgende Nahrungsaufnahme beobachtet; sie haben im Gegenteil hervorgehoben, daß eine nicht infektiöse Periode besteht. Auch von allen meinen Versuchsflöhen hat keiner durch den 24 Stunden nach der infizierenden Nahrungsaufnahme stattfindenden Saugakt eine Ratte infiziert. Nun wimmelt aber nach Minchin und Thomson bei den meisten Flöhen 12—36 Stunden nach dem infizierenden Saugakte der Ventriculus von intracellulären und freien Trypanosomen. Dasselbe ist bei einem Teile meiner Hundeflöhe nach 24 Stunden der Fall. Darum müßte gerade dieser Zeitpunkt für eine Regurgitation

ganz besonders günstig sein. Da ich an jenem Zeitpunkte ebensowenig wie Minchin und Thomson eine Infektion beobachtet habe, ist die Regurgitationshypothese stark anzuzweifeln. Auf die Beweisgründe, die Minchin und Thomson für die Richtigkeit ihrer Annahme beibringen wollen, bin ich gespannt. Swellengrebel und Strickland haben durch sorgfältige Versuche gezeigt, daß eine Infektion durch den Stechakt nicht erfolgt. Dagegen erfolgte sie, wenn die Flöhe frei auf die Ratte gesetzt wurden.

Von Bedeutung erschien mir ferner der Umstand, daß nach den veröffentlichten Protokollen von Minchin und Thomson deren Flöhe einen größeren Prozentsatz der Ratten infizierten, während meine gefesselten Flöhe in den beiden Serien, in denen Infektionen erfolgten, von den 27 gestochenen Ratten nur 3 infizierten. Den Grund dafür mußte ich mit darin suchen, daß die Ratten während der Nahrungsaufnahme des Flohes festgespannt sind.

Da nach alledem der Stich des Flohes als Infektionsmöglichkeit fast ausgeschaltet war, suchte ich nach weiteren Infektionswegen. Da ich meine Hundeflöhe während des Saugaktes unausgesetzt beobachtet hatte, waren mir die Defäkationen nicht entgangen. Doch hatte ich ihnen anfangs wenig Beachtung geschenkt. Nach Ausschaltung des Stechaktes mußten sie jetzt nach den obigen Überlegungen allein in Frage kommen. Da ich in Floh 11 einen Versuchsfloh besaß, der sich als infektiös erwiesen hatte, verstärkte ich seine Infektion dadurch, daß ich ihn am 14. I. und am 15. I. 12 auf einer infizierten Ratte saugen ließ. Ebenso ließ ich den Floh 12 vom 14. bis zum 17. I. 12 täglich auf einer infizierten Ratte saugen, um ihn mit Sicherheit zu infizieren. Dann traf ich die folgende Versuchsanordnung: Die Versuchsflöhe setzte ich entweder zusammen auf eine, oder getrennt auf verschiedene nichtinfizierte Ratten. Neben jeder dieser Ratten spannte ich eine weitere nichtinfizierte Vorratsratte auf. Darauf übertrug ich die Kottröpfchen, die die Flöhe während des Saugaktes abgaben, auf die Zunge der daneben aufgespannten Ratte, weil ich schloß, daß die Infektion durch eine Schleimhaut der normale Weg sein müsse, weil in den vielen Versuchen, bei denen ich bisher den Kot auf der Ratte belassen hatte, keine Infektion eingetreten war, eine Beobachtung, die der perkutanen Infektion durch Fäces widerspricht oder sie doch nur als seltene Ausnahme zuläßt. Außerdem macht der Umstand eine perkutane Infektion recht unwahrscheinlich, daß die Fäcesströpfchen in den Haaren der Ratte hängen bleiben und meist vertrocknen, ehe sie auf die Haut gelangen. Für die Möglichkeit der Infektion durch

Ablecken der Fäces sprachen sowohl die Tatsache, daß sich die weißen Ratten beständig lecken, wie auch die Beobachtung, daß Ratten mit Ungeziefer infolge des Juckreizes, den der Stich verursacht, nach der Stichstelle beißen, um den Floh bzw. die Laus zu erhaschen, und daß Tiere mit Vorliebe schmerzhafte Stellen belecken, um den Schmerz zu mildern. Die Übertragung der Fäces nahm ich zunächst mit einem feinen Messerchen vor, an dessen Klinge nach Eintauchen in physiologische Kochsalzlösung ein Tröpfchen derselben haften blieb. Um das Aufstreichen vertrockneter Fäces zu vermeiden, verwandte ich nur Fäcesträpfchen, die soeben aus dem Anus des Flohes hervorgequollen waren und in Form eines runden Tröpfchens hängen blieben. Beim Berühren mit dem Messerchen blieb der Fäcestropfen sofort an der in die physiologische Kochsalzlösung getauchten Klinge kleben. Mit dem Messerrücken wurde er sorgfältig auf die Zungenunterseite der Ratte gestrichen, wobei ich ängstlich darauf bedacht war, jede Verletzung der Schleimhaut zu vermeiden. Später benutzte ich einen kleinen Glasspatel, dessen Kanten sorgfältig rundgeschmolzen worden waren, so daß jede Verletzung unmöglich wurde. Freilich ist es eine Geduld fordernde Beschäftigung, Tag für Tag die Flöhe 2—4 Stunden unausgesetzt zu beobachten, um die Fäcesträpfchen sofort auf die daneben aufgespannte Ratte übertragen zu können, doch wurde ich für die Zeit, die ich darauf verwandte, durch den Ausfall des Experimentes glänzend belohnt. Um außerdem zu entscheiden, welche Formen der Trypanosomen an den einzelnen Versuchstagen in den Fäces erschienen, machte ich täglich von einigen während des Saugaktes abgegebenen Fäcesträpfchen einen Ausstrich mit einem winzigen Tröpfchen physiologischer Kochsalzlösung, fixierte nach dem Trocknen in Alkohol und färbte nach Romanowsky. Übrigens gelingt der Nachweis der Trypanosomen sogar in Ausstrichen, die von den trockenen, über Nacht auf die Watte abgegebenen Fäcesträpfchen der Versuchsflöhe hergestellt werden. Die Experimente fielen so aus, daß von den Ratten, auf die ich die Flöhe gesetzt hatte, nur die beiden ersten angingen, von denen ich die während des Saugaktes abgefallenen, nicht benutzten Fäcesträpfchen nicht entfernt hatte. Nachdem ich die Flohfäces von den gestochenen Ratten sorgfältig mit dem Fingernagel entfernte oder abblies, ging keine mehr an. Von einer Desinfektion der Stichstelle mußte ich Abstand nehmen, weil dadurch die eventuell durch Regurgitation in die Stichwunde gebrachten Trypanosomen abgetötet worden wären.

Von vierzehn Ratten dagegen, denen ich Fäces auf die Zungen-

schleimhaut gestrichen hatte, zeigten zehn am fünften, sechsten oder siebenten Tage darauf die ersten Trypanosomen im Blute. Diese mit allen Vorsichtsmaßregeln ausgeführten Übertragungsversuche lassen keinen Zweifel darüber, daß der normale Infektionsmodus durch Flöhe der ist: Die Ratten erwerben die Infektion durch das Ablecken der trypanosomenhaltigen Fäces infizierter Flöhe. Als ein wahrscheinlicher weiterer Infektionsweg dürfte das Verspritzen von Fäces auf feuchte Hautstellen oder Schleimhäute (z. B. in das Auge) anzureihen sein. Außerdem ist die Möglichkeit vorhanden, daß die trypanosomenhaltigen Fäces in die Stichwunde gelangen, wenn die Ratte die Stichstelle ableckt.

Morphologie und Situs der Trypanosomen im Hundefloh.

Bei meinen Versuchen ließ ich die Flöhe, die ich infizieren wollte, stets auf Ratten saugen, die in ihrem Blute große Mengen von Trypanosomen zeigten. MINCHIN und THOMSON betonen, daß es nur bei wenigen Flöhen gelingt, eine Infektion zu erzielen. Desgleichen haben von den Glossinen, die KLEINE auf infizierten Tieren saugen ließ, nur wenige eine dauernde Infektion mit *Trypanosoma brucei* erworben. Als Ursache für diesen geringen Erfolg wurde meist angenommen, daß die Überträger nur infektiös würden, wenn die Trypanosomen einen Sexualakt durchgemacht hätten. Was den Rattenfloh anbetrifft, so vermuten MINCHIN und THOMSON, daß nur die Flöhe infektiös werden, in deren Magenepithel die von ihnen entdeckte intracelluläre Vermehrungsweise stattgefunden hat. Ich verwandte große Sorgfalt darauf, die Fragen zu klären.

Zunächst galt es, festzustellen, ob die intracellulären Stadien auch in anderen Flöhen vorkommen. Von einigen, von einer stark infizierten Ratte abgesammelten Exemplaren der *Ctenopsylla musculi* DUGÈS zeigte eins eine große Anzahl intracellulärer Trypanosomenkugeln. Um die intracellulären Stadien auch beim Hundefloh aufzusuchen, ließ ich mehrere gefesselte Hundeflöhe 2 Stunden auf stark infizierten Ratten saugen. Schon 40 Min. nach Beginn des Saugaktes erschienen in den roten flüssigen Fäces eines dieser Flöhe Trypanosomen. Nach Beendigung des Saugaktes brachte ich die Flöhe in das Brutzimmer (+26° C). 24 Stunden später zerlegte ich die Flöhe. Da zeigte sich, daß der Ventriculus bei einem Floh schon ganz von Trypanosomen gereinigt war. Daß der Floh aber

Protokolle:

Versuchstier (die infizierten Tiere in Sperrdruck)	Datum des Versuches und der Isolierung	Art des Experiments	Ergebnis	Datum der letzten Blutuntersuchung
Naganaratte	23. XII. 11	Floh 11. Saugakt		
Lewisiratte	24. XII. 11	Floh 12. Saugakt		
Ratte 35	24. XII. 11	Floh 11. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 36	25. XII. 11	Floh 11. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 37	25. XII. 11	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 39	26. XII. 11	Floh 11. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 40	26. XII. 11	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 39	27. XII. 11	Floh 11. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 41	27. XII. 11	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Lewisiratte	28. XII. 11	Floh 11. Saugakt		
Ratte 42	28. XII. 11	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 39	29. XII. 11	Floh 11. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 43	29. XII. 11	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 39	30. XII. 11	Floh 11. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 44	30. XII. 11	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 39	31. XII. 11	Floh 11. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 45	31. XII. 11	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 36	1. I. 12	Floh 11. Saugakt	Trypanosomen (Datum vergessen)	
Ratte 36	2. I. 12	Floh 11. Saugakt		
Ratte 47	1. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Kontrollratte 49	2. I. 12	—	—	24. I. 12
Kontrollratte 50	2. I. 12	—	—	24. I. 12
Ratte 51	2. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 55	3. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 53	3. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 56	4. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 57	4. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 59	5. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 60	5. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 62	6. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	24. I. 12
Kontrollratte 63	6. I. 12	—	—	24. I. 12

Kontrollratte 64	6. I. 12	—	—	24. I. 12
Ratte 65	6. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 67	7. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 68	7. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 70	8. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 71	8. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 73	9. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 74	9. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	24. I. 12
Ratte 76	10. I. 12	Floh 11. Saugakt	Trypanosomen am 18. I. 12	
Ratte 77	10. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	30. I. 12
Kontrollratte 78	10. I. 12	—	—	30. I. 12
Kontrollratte 79	10. I. 12	—	—	30. I. 12
Ratte 80	11. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	30. I. 12
Ratte 81	11. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	30. I. 12
Ratte 82	12. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	30. I. 12
Ratte 83	12. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	30. I. 12
Ratte 84	13. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	30. I. 12
Ratte 85	13. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	30. I. 12
Lewisiratte	14. I. 12	Floh 11 und Floh 12. Saugakt		
Lewisiratte	15. I. 12	Floh 11 und Floh 12. Saugakt		
Ratte 86	16. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	30. I. 12
Lewisiratte	16. I. 12	Floh 12. Saugakt		
Ratte 87	17. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	30. I. 12
Lewisiratte	17. I. 12	Floh 12. Saugakt		
Ratte 88	18. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	10. II. 12
Kontrollratte 89	18. I. 12	—	—	10. II. 12
Ratte 90	18. I. 12	Fäces von Floh 11	—	10. II. 12
Ratte 88	18. I. 12	Floh 12. Saugakt		
Ratte 91	19. I. 12	Floh 12. Saugakt. (Fäces nicht entfernt)	Trypanosomen am 26. I. 12	
Ratte 92	19. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	10. II. 12
Ratte 93	19. I. 12	Fäces von Floh 11	Trypanosomen am 25. I. 12	
Ratte 94	20. I. 12	Floh 11. Saugakt. (Fäces nicht entfernt)	Trypanosomen am 26. I. 12	
Ratte 95	20. I. 12	Fäces von Floh 11	Trypanosomen am 26. I. 12	
Ratte 96	20. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	10. II. 12
Ratte 97	20. I. 12	Fäces von Floh 12	—	10. II. 12
Ratte 98	21. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	10. II. 12
Ratte 99	21. I. 12	Fäces von Floh 11	Trypanosomen am 26. I. 12	
Ratte 100	21. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	10. II. 12
Ratte 101	21. I. 12	Fäces von Floh 12	Trypanosomen am 26. I. 12	
Kontrollratte 102	21. I. 12	—	—	10. II. 12
Kontrollratte 103	21. I. 12	—	—	10. II. 12

Protokolle:

Versuchstier (die infizierten Tiere in Sperrdruck)	Datum des Versuches und der Isolierung	Art des Experiments	Ergebnis	Datum der letzten Blut-untersuchung
Kontrollratte 104	21. I. 12	—	—	10. II. 12
Ratte 105	22. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	10. II. 12
Ratte 106	22. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	10. II. 12
Ratte 107	23. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	10. II. 12
Ratte 109	23. I. 12	Fäces von Floh 11 und Floh 12	Trypanosomen am 29. I. 12	
Ratte 108	23. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	10. II. 12
Ratte 110	24. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	10. II. 12
Ratte 111	24. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	10. II. 12
Ratte 112	24. I. 12	Fäces von Floh 11 und Floh 12	Trypanosomen am 29. I. 12	
Kontrollratte 113	24. I. 12	—	—	10. II. 12
Ratte 114	25. I. 12	Floh 11. Saugakt	—	10. II. 12
Ratte 115	25. I. 12	Floh 12. Saugakt	—	10. II. 12
Ratte 116	25. I. 12	Fäces von Floh 11 und Floh 12	Trypanosomen am 1. II. 12	
Ratte 117	26. I. 12	Floh 11. Saugakt. Fäces entfernt	—	10. II. 12
Ratte 119	26. I. 12	Fäces von Floh 11 (mit Glasspatel)	Trypanosomen am 2. II. 12	
Ratte 118	26. I. 12	Floh 12. Saugakt. Fäces entfernt	—	10. II. 12
Ratte 120	27. I. 12	Floh 11. Saugakt. Fäces entfernt	—	10. II. 12
Ratte 121	27. I. 12	Floh 12. Saugakt. Fäces entfernt	—	10. II. 12
Ratte 122	28. I. 12	Floh 11. Saugakt. Fäces entfernt	—	10. II. 12
Ratte 123	28. I. 12	Fäces von Floh 11	—	10. II. 12
Ratte 124	28. I. 12	Fäces von Floh 11	Trypanosomen am 3. II. 12	
Ratte 125	29. I. 12	Floh 11. Saugakt. Fäces entfernt	—	10. II. 12
Ratte 126	30. I. 12	Floh 11. Saugakt. Fäces entfernt	—	10. II. 12
Ratte 127	30. I. 12	Fäces von Floh 11	—	10. II. 12
Ratte 128	30. I. 12	Fäces von Floh 11	Trypanosomen am 5. II. 12	
Kontrollratte 129	30. I. 12	—	—	10. II. 12
Kontrollratte 130	30. I. 12	—	—	10. II. 12
Kontrollratte 131	30. I. 12	—	—	10. II. 12
Kontrollratte 132	30. I. 12	—	—	10. II. 12
Kontrollratte 133	30. I. 12	—	—	10. II. 12

trotzdem eine Infektion erworben hatte, bewies eine genaue Betrachtung des Dünndarmes. Unmittelbar hinter dem Pylorus und an der Wand des vorderen Ileums hatten sich zahlreiche Trypanosomen festgesetzt, die teils einzeln, teils in Rosetten saßen. Beim zweiten Floh war der Ventriculus mit Schwärmen von Trypanosomen erfüllt, ohne daß ich jedoch intracelluläre Stadien fand. Der dritte Floh zeigte neben Schwärmen freier Trypanosomen intracelluläre Teilungsstadien, ebenso der vierte. Bei vier weiteren gefesselten Flöhen, die ich 24 Stunden nach dem infizierenden Saugakte an einer nicht infizierten Ratte 80 Min. hatte saugen lassen, fand ich nur im Ventriculus eines einzigen noch ein intracelluläres Stadium. Bei den anderen waren die Trypanosomen bereits aus dem Magen verschwunden. Den nächsten Versuch stellte ich mit fünf gefesselten Hundeflohweibchen so an, daß ich sie (24 Stunden nach dem Abfangen von einem Hunde) 3 Stunden lang auf einer stark infizierten Ratte saugen ließ und 19—20 Stunden nach Beendigung des Saugaktes zerlegte, ohne sie vorher wieder stechen zu lassen. Aus dem Ventriculus des ersten Flohes waren die Trypanosomen schon gänzlich verschwunden. Sie hatten sich bereits an der Pylorusklappe und unmittelbar hinter ihr an der Dünndarmwand angeheftet und bildeten hier einen zottigen Behang. Auch in dem hinteren Teile des Dünndarmes und im Rectum fanden sich schon zahlreiche festgeheftete Exemplare. Beim zweiten und dritten Floh wimmelte der ganze Ventriculus von freien und intracellulären Stadien. Beim vierten und fünften Floh fand ich nur freie Trypanosomen, konnte jedoch die Präparate nicht genau untersuchen, da sich zuviel störende Bluttrümmer im Präparate befanden. Den dritten Versuch stellte ich mit sieben von Kaninchen abgefangenen und dann gefesselten Hundeflohweibchen an, die ich 24 Stunden nach der Abnahme vom Kaninchen 2 Stunden 45 Minuten auf einer stark infizierten Ratte saugen ließ. Diese brachte ich nach dem Saugakte in das Brutzimmer (+24° C) und zerlegte sie in Zwischenräumen, um die Veränderungen der Trypanosomen in den ersten 12 Stunden nach Beginn des Saugaktes zu verfolgen. Den ersten Floh zerlegte ich 2 Stunden 55 Minuten nach Beginn (also 10 Minuten nach Beendigung) des Saugaktes. Trotz sorgfältiger Untersuchung des zerzupften Ventriculus konnte ich nur Schwärme freier Trypanosomen auffinden. Den zweiten Floh zerlegte ich 4 Stunden 50 Minuten nach Beginn des Saugaktes und beobachtete das vom Ventriculus hergestellte Zupfpräparat 40 Minuten lang. Ich fand nur freie Trypanosomen, unter denen mir eine Teilungsform auffiel. Den dritten Floh zer-

legte ich 5 Stunden 36 Minuten nach Beginn des Saugaktes und beobachtete das interessante Zupfpräparat, dem ich beim Zurückweichen der physiologischen Kochsalzlösung stets ein Tröpfchen destillierten Wassers zusetzte, 2 Stunden 29 Minuten. 5 Stunden 50 Minuten nach Beginn des Saugaktes sah ich die erste Form mit birnförmig verdicktem Hinterende. Zugleich fielen mir zahlreiche Trypanosomen auf, die mit dem spitzen Hinterende an den Epithelzellen festsaßen und mit dem geißeltragenden Vorderende heftig schlugen, eine Erscheinung, auf die Minchin und Thomson hinweisen. Sie vermuten, daß diese Anheftung dem Eindringen in die Zelle, das sie nicht beobachtet haben, vorausgeht. In der Tat konnte ich die Richtigkeit dieser Vermutung bestätigen. 5 Stunden 55 Minuten nach Beginn des Saugaktes sah ich ein Trypanosoma, dessen spitzes Hinterende soeben in eine Epithelzelle eingedrungen war. Das geißeltragende Vorderende schlug fortwährend heftig, wobei das Trypanosoma immer weiter in die Zelle eindrang. Nachdem ich dieses Schauspiel ungefähr 5 Minuten beobachtet hatte, schoß das Trypanosoma, das bisher langsam bis zur Mitte seines Leibes in die Zelle eingedrungen war, plötzlich in die Zelle hinein und wirbelte durch seine lebhafte Bewegung den körnigen Zellinhalt auf. Da jedoch die Zelle an der entgegengesetzten Seite abgerissen war, schoß das Trypanosoma bald durch die Rißstelle aus der Zelle hinaus. Sogleich darauf (6 Stunden nach Beginn des Saugaktes) fand ich ein in eine Zellvakuole eingedrungenes normales Trypanosoma, an dem ich die intracelluläre Aufknäuelung und Teilung von Anfang bis zum Ende verfolgen konnte. Das Trypanosoma bewegte sich außerordentlich lebhaft in der Zelle, wobei ich sah, wie sich das Hinterende verdickte und im Verlaufe von 30 Minuten aufknäuelte. Es entstand ein ovaler Knäuel, aus dem die lebhaft schlagende Geißel hervorragte und den Knäuel in Bewegung setzte. Im Verlaufe der nächsten 5 Minuten wurde die Geißel in den Knäuel eingezogen, auf dem schon eine Sonderung in zwei Streifen bemerkbar wurde. Auch schien eine zweite Geißel zu entstehen. Der ovale Knäuel bewegte sich lebhaft, wobei auf der Oberfläche stets eine Streifung sichtbar blieb. Eine kugelartig den Knäuel umgebende Hülle wurde nicht gebildet. In diesem Zustande beobachtete ich den Knäuel über 1 Stunde, bis er plötzlich (7 Stunden 38 Minuten nach Beginn des Saugaktes) platzte und zwei Trypanosomen in Freiheit setzte, von denen eins die Wand der Zellvakuole durchbohrte und hinausschoß, während das zweite in der Vakuole blieb und dieselben Bewegungen begann wie das Muttertier.

Kurz darauf sah ich mehrere in freiliegende Epithelzellen eingedrungene, die meist unter Vorgang des stark schlagenden Vorderendes an der Zellwand entlang in der Zelle herumkreisten. Auffällig ist, daß die in die Zelle eingedrungenen Trypanosomen sich vorwiegend mit nach vorn gerichteter Geißel bewegen, während das Eindringen mit dem Hinterende erfolgte. 7 Stunden 45 Minuten nach Beginn des Saugaktes beobachtete ich die Abknäuelung eines freiliegenden Trypanosomas, ohne daß eine Hülle gebildet wurde. Nach 10 Minuten ließ sich eine zweite Geißel nachweisen. Doch starb der Knäuel vor Vollendung der Teilung ab.

Den vierten Floh zerlegte ich 8 Stunden 48 Minuten nach Beginn des Saugaktes und beobachtete das Präparat 22 Minuten. In den Epithelzellen des Ventriculus sah ich während dieser Zeit eine Anzahl einzelner Trypanosomen. Zugleich sah ich vier voll ausgewachsene, fertige, aus den Zellen herausgepreßte Trypanosomenknäuel, die von einer kugelrunden, dünnen Membran umhüllt waren („spheres“ nach Minchin und Thomson). Im Innern derselben lagen fertig ausgebildete, durcheinanderwimmelnde Trypanosomen, deren Zahl jedesmal ungefähr zehn betragen mochte. Eine genaue Zählung war natürlich unmöglich. Daneben sah ich noch ein kleines Knäuel ohne Hülle, das aber nur zwei bis drei Trypanosomen enthielt. Die Präparation des fünften Flohes mißlang. Den sechsten Floh zerlegte ich 11 Stunden 13 Minuten nach Beginn des Saugaktes und beobachtete das Präparat bis zum Ablaufe der 12. Stunde. Auffallend war, daß ich bei diesem Floh keine zum Platzen reifen Kugeln mehr finden konnte, sondern nur normal gestaltete intracelluläre Trypanosomen und birnförmig verdickte Exemplare, die sich zur Kugelbildung anschickten. Außerdem sah ich mehrere freie Teilungsformen und ein kleines membranloses Knäuel, das nur aus zwei bis vier Trypanosomen bestand. Den siebenten Floh hatte ich 10 Stunden 32 Minuten nach Beginn des Saugaktes zerlegt, nachdem ich ihn 5 Stunden im Thermostaten bei $+ 37^0$ C gehalten hatte. Er hatte während dieser Zeit viel Kot abgegeben. Als ich das Präparat durchmusterte, war ich erstaunt, daß ich im Ventriculus trotz sorgfältiger Prüfung überhaupt nur drei Trypanosomen auffinden konnte. Daß der Floh nicht genug gesogen hätte, ist unwahrscheinlich, da ich sorgfältig auf die Flöhe beim Sangakte geachtet hatte. Wahrscheinlich ist vielmehr, daß die Trypanosomen bei der hohen Temperatur verdaut wurden. Doch können erst weitere Experimente diese Frage entscheiden.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen möchte ich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Es gelingt mit meiner Fesselungsmethode bei (fast) jedem Hundefloh, die intracellulären Trypanosomen im Epithel des Ventriculus nachzuweisen, wenn man darauf achtet, daß der Floh lange genug auf einer infizierten Ratte saugt.

2. Schon beim ersten infizierenden Saugakte wird der ganze Darmkanal des Flohes vom Ösophagus bis zum Anus mit Trypanosomen überschwemmt.

3. Ob der Floh eine dauernde Infektion erwirbt, darüber entscheidet der Umstand, ob es den Trypanosomen gelingt, sich im Dünndarm oder Rectum festzusetzen. Ob die mit dem Blute soeben eingesogenen Trypanosomen die Fähigkeit zur Anheftung besitzen oder ob diese erst die Trypanosomen erwerben, die eine intracelluläre Vermehrung durchgemacht haben, wird sich kaum entscheiden lassen.

4. Nur selten finden sich 24 Stunden nach dem infizierenden Saugakte noch Trypanosomen im Ventriculus des Hundeflohes (bei einer Temperatur von + 25 bis + 30° C!!). Oft ist der Magen schon 20 Stunden nach Beginn des infizierenden Saugaktes von Trypanosomen gereinigt.

5. Bei + 25° C kommen im Magenepithel des Hundeflohes schon 9 Stunden nach Beginn des infizierenden Saugaktes zum Platzen reife „Kugeln" vor, die über acht Trypanosomen enthalten. Das ergibt bei der sehr wahrscheinlichen Voraussetzung, daß diese Kugeln von einem einzigen Muttertiere abstammen, eine Vermehrungsgeschwindigkeit, die einer in dreistündigen Intervallen stattfindenden Zweiteilung entspricht.

6. Die Frage, die Minchin und Thomson aufwerfen, ob die Trypanosomen nur eine oder mehrere aufeinanderfolgende intracelluläre Generationen im Mitteldarmepithel durchmachen, ist für den Hundefloh dahin zu beantworten: Die Trypanosomen machen bei + 25° C normalerweise mindestens zwei, vielleicht noch mehr intracelluläre Generationen durch.

Was die Morphologie der intracellulären Stadien anbetrifft, so kann ich die Angaben von Minchin und Thomson durchgehend bestätigen. Ich habe ebenfalls bei allen im Leben beobachteten intracellulären Stadien und bei allen Stadien, deren Färbung gelang, Blepharoplast und Geißel nachweisen können. Ergänzen kann ich die Angaben nur in unwesentlichen Punkten. Ich habe die intracellulären Stadien nicht nur im Ausstriche, sondern auch im Schnitte verfolgt, um zu ermitteln, welche Wirkung die Parasiten auf das

Epithel des Ventriculus ausüben. Dabei zeigte sich, daß sich in den jungen Zellen der Proliferationsflecken nur seltene oder gar keine Trypanosomen nachweisen ließen. Dagegen fanden sie sich in großer Menge in den Epithelzellen, die bald der Ablösung anheimfielen oder schon abgelöst waren. Diese Zellen zeigten oft so viele Trypanosomen und Trypanosomenknäuel, daß von dem Zellprotoplasma nur ein netzförmiges Gewebe übrigblieb. Einmal habe ich im Schnitte in einer Zelle, deren Abstoßung bevorstand, in einer runden Höhlung nicht weniger als ca. 40 Trypanosomen gezählt; ein anderes Mal fand ich im Ventriculus einer *Ctenopsylla musculi* Dugès eine abgestoßene Zelle, die ganz zu einer Kugelhülle ausgeweitet war. Im Innern der Höhle, deren Kontur ich mit dem



Krause gez.

Fig. 5. Viele Trypanosomen in einer Epithelzelle des Flohmagens. Schnitt. 2700 ×.

Zeichenapparate festlegte und darum ausmessen konnte, wirbelten Hunderte von Trypanosomen bunt durcheinander, die die Zelle allmählich verließen, als sie an einer Stelle geborsten war. Der Durchmesser des von den Trypanosomen ausgefüllten kugligen Hohlraumes betrug 24 μ, während der durchschnittliche Durchmesser von „Kugeln“ mit 8—10 Trypanosomen 3,5—6 μ beträgt.

Morphologie und Vermehrung der festgehefteten Trypanosomen.

Sobald die Anheftung der Trypanosomen im Enddarme stattgefunden hat, ist eine dauernde Infektion des Flohes gesichert. Meist bilden die Trypanosomen 24 Stunden nach dem infizierenden Saugakte schon einen ringförmigen Belag auf der Dünndarmwand unmittelbar hinter dem Pylorus; oft zeigt auch die Pylorusklappe einen dichten, zottigen Behang von Trypanosomen. Diese Anheftungsweise dürfte die normale darstellen. Bei manchen Flöhen trifft man aber 24 Stunden nach dem Saugakte den Dünndarm ganz trypanosomenfrei, während sich in der Rectalblase und zwar meist in der Nähe der Anheftungsstellen der Rectaldrüsen einzelne Trypanosomen oder ganze Klumpen festgesetzt haben. Ob in diesen Fällen eine Infektion des Dünndarmes stattfindet, ist zweifelhaft, da nicht anzunehmen ist, daß die Entwicklung der Trypanosomen nach vorn fortschreitet. Immerhin werden wohl auch die Flöhe infektiös, bei denen sich die Trypanosomen nur im Rectum ansiedeln und vermehren. Die Trypanosomen, denen es gelungen ist, sich im Dünndarme festzuheften, beginnen sich nun lebhaft durch Zweiteilung und multiple Teilung zu vermehren. Bei + 25° bis + 30° C schreitet ihre Ausbreitung so schnell vor, daß 3—4 Tage nach dem infizierenden Saugakte die Wände des ganzen Dünndarmes und zum Teil des Rectums von einem dichten, lückenlosen Flagellatenpolster bekleidet sind. Sobald dieser Zeitpunkt erreicht ist, bilden die Trypanosomen ein Hindernis für die Kotentleerung. Die überwiegende Mehrzahl der Entwicklungsstadien zeigt bei fortgeschrittener Entwicklung den Typus der „kleinen“ Trypanosomen, die Swellengrebel und Strickland so ausführlich beschrieben und abgebildet haben, daß es nutzlos ist, auf sie weiter einzugehen. Eine Unterscheidung der Rattentrypanosomen im Hundefloh von der *Leptomonas* ist außerordentlich leicht, da bei den Trypanosomen fast stets Formen mit typischer undulierender Membran neben den Stadien der multiplen Teilung vorhanden sind, während *Leptomonas*-Rasen durchgehend aus ovalen Formen bestehen, bei denen ich eine undulierende Membran noch nicht gefunden habe.

Wann enthalten die Fäces der Flöhe Trypanosomen?

Wie schon erwähnt, erscheinen die unveränderten Trypanosomen meist schon während des infizierenden Saugaktes in den Fäces der Flöhe. Auch in dem Kote, den der Floh in der Zeit bis zum nächsten

Saugakte auf die Watte abgibt, lassen sich manchmal Trypanosomen nachweisen. In den Fäces dagegen, die der Floh nach 24 Stunden während des Saugaktes auf der ersten nicht infizierten Ratte abgibt, gelingt der Nachweis meist nicht. Ich habe vier Versuche gemacht, Ratten mit solchen Fäces zu infizieren, doch sind alle vier negativ ausgefallen. Erst wenn die Entwicklung der festgehefteten Trypanosomen so weit fortgeschritten ist, daß sie eine dichte Bekleidung der Dünndarmwand und infolge ihrer massenhaften Ansammlung ein Hindernis für den durchströmenden Darminhalt bilden (vom 4.—5. Tage an), werden sie Tag für Tag in großen Mengen losgerissen und mit den Fäces entleert. Diese Tatsache erklärt zwanglos das Vorkommen der von MINCHIN und THOMSON zuerst beobachteten nicht infektiösen Periode der Flöhe.

Das Ergebnis meiner Versuche, daß die Flöhe nach Ablauf einer nicht infektiösen Periode leicht durch ihre Fäces infizieren, ist für die phylogenetische Ableitung der Blutflagellaten interessant und wird jedenfalls auch für die Ermittlung der Übertragungsweise vieler anderer Trypanosomen Bedeutung erlangen. Es zeigt den einfachsten Weg, auf dem Insektenflagellaten zu Blutparasiten der Wirbeltiere geworden sind. Die mit den Fäces der Flöhe ausgestoßenen Trypanosomen sind auf Schleimhäute des Säugetierwirtes gelangt, haben hier günstige Lebensbedingungen gefunden und sind in die Blutbahn gelangt, von der aus sie wiederum den blutsaugenden Insektenwirt infizieren können.

Vermutlich kommt die Übertragung durch die Fäces des infizierten Überträgers auch bei anderen Trypanosomenarten und ähnlichen Blutparasiten in Frage. Sofern es sich bewahrheitet, daß der Hundefloh der Überträger der Hundeleishmania ist und daß die Leishmaniosis der Menschen durch denselben Parasiten hervorgerufen wird, so ist mit Sicherheit anzunehmen, daß die Übertragung durch die Fäces der Flöhe erfolgt, wenn diese auf die Stichwunde oder auf eine Schleimhaut gelangen. Dann dürfte auch die Gefahr der Infektion durch Reinlichkeit leicht zu beseitigen sein, was ja gut mit der Tatsache übereinstimmt, daß die unreinlichen Volksklassen hauptsächlich an der Krankheit leiden. Bei *Trypanosoma vivax* dürfte nach ROUBAUD und BOUFFARD infolge der Rüsselinfektion bei den Glossinen eine Übertragung durch den Stechakt vorkommen. Dagegen ist der Übertragungsmechanismus bei *Trypanosoma gambiense* und bei *Trypanosoma brucei* noch unbekannt. Nur bei wenigen der infektiösen Glossinen haben KLEINE und TAUTE Trypanosomen in den Speicheldrüsen gefunden, während bei der großen Mehrzahl die

Trypanosomen nur im Darme vorhanden waren.[1]) In den Fäces infizierter Glossinen haben beide Forscher Trypanosomen gefunden; doch ist aus den Berichten nicht zu ersehen, ob die Glossinen während des Saugaktes regelmäßig auf das gestochene Tier Fäces abgeben. Ebenso unklar liegen die Verhältnisse bei *Schizotrypanum cruzi.* Die längere Dauer der nicht infektiösen Periode widerspricht der Möglichkeit einer Infektion durch die Fäces nicht. da der Zeitpunkt der vollkommenen Auspolsterung der infizierten Darmabschnitte bei größeren Insekten natürlich später erreicht wird als bei kleinen. Die Annahme, daß die Trypanosomen durch negativen Rheotropismus in die Stichwunde gelangen, ist ganz hypothetisch. Auch ist weder für die Glossinen, noch für *Conorhinus* das Vorkommen einer Regurgitation nachgewiesen worden.

Die Flohzirkusmethode.

Da die Übertragungsversuche mit Flöhen bisher stets nur unsichere Ergebnisse boten, weil sich die Flöhe meist der Beobachtung durch den Experimentator entzogen und sich nur halb in seiner Gewalt befanden, so stellt meine Methode zweifellos einen großen Fortschritt dar. Da den gut gefesselten Flöhen die Möglichkeit der Flucht gänzlich genommen ist, so werden Arbeiten mit gefährlichen Krankheiten für den Forscher gefahrlos. Die genaue Kontrolle der Saugakte ermöglicht eine zeitlich ungemein scharfe Festsetzung des Anfanges und der Dauer der infektiösen Periode. Der Umstand, daß der Floh beliebig abgenommen und beliebig aufbewahrt werden kann, ermöglicht das Studium des Einflusses verschiedener Temperaturen auf die Entwicklung der Mikroorganismen, die der Floh überträgt. Ebenso kann der Einfluß verschiedener Blutarten leicht untersucht werden. Endlich ermöglicht die genaue Kontrolle der Fäces, einerseits Spontaninfektionen des Flohes sofort zu erkennen, andererseits in jedem beliebigen Augenblicke die Mikroorganismenentwicklung im Floh genau und sicher festzustellen. Infolge dieser Vorzüge ist meine Methode in hohem Grade geeignet, bei der Pestforschung noch ungelöste Übertragungsfragen ihrer Lösung entgegenzuführen.

[1]) Anmerkung bei der Durchsicht. Nach den neueren Arbeiten von Bruce und seinen Mitarbeitern (Proceed. of the Royal Soc. B. Vol. 83 1911) ist der normale Infektionsweg von *Tryp. gambiense* durch die Glossinen die Einführung der Trypanosomen in die Stichwunde mit dem Secrete der infizierten Speicheldrüsen. Ob daneben noch eine Infektion durch die Fäces der Glossinen vorkommt, darüber liegen meines Wissens noch keine Versuche vor.

II. Teil (1914).

Die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen. II.

1. Untersuchungen über die Übertragung durch Flöhe.

Literatur.

In den zwei Jahren, die seit dem Erscheinen meiner ersten Arbeit vergangen sind, sind von WENYON und BRUMPT Ergänzungen und neue Forschungen über jenen Gegenstand veröffentlicht worden. WENYON hat schon 1912 meine Versuche in vollem Umfange bestätigen können. Ihm ist es auch gelungen, durch den Menschenfloh (*Pulex irritans*) die Rattentrypanosomen in genau der gleichen Weise zu übertragen. Bei seinen Versuchen hat er gefesselte Flöhe angewandt und gefunden, daß sich mit dieser von mir eingeführten Methode die Übertragungsversuche gut durchführen lassen. Er hat auch wertvolle Angaben über die parasitischen Flagellaten der Flöhe gesammelt. Er fand ebenfalls im Hundefloh die von mir 1912 behandelte *Leptomonas* und eine ähnliche *Leptomonas* im Menschenfloh, bei welcher ihm sogar die Kultur auf Blutagar gelang. 1913 hat er in der gleichen Weise das Rattentrypanosoma durch den häufigsten Pestfloh, *Xenopsylla (Pulex) cheopis*, übertragen. Diese Angaben bieten eine wertvolle Bestätigung meiner 1912 ausgesprochenen Vermutung, daß wahrscheinlich alle auf Ratten vorkommenden Puliciden als Überträger des Rattentrypanosomas wirken können.

BRUMPT hat schon im Jahre 1912 zeigen können, daß die von mir auch für *Schizotrypanum cruzi* vermutete Übertragungsweise vorkommt. Er hat durch intraperitoneale Einspritzung von Kot infizierter *Conorhinus*-Exemplare eine Infektion bei Versuchstieren zustande bringen können. Wenn er sich freilich auf Grund dieser wenigen und ungenau durchgeführten Experimente (intraperitoneale Einspritzung!) die Priorität zuschreibt und glaubt, daß er die von

mir genau untersuchte Übertragungsweise durch Kot schon nachgewiesen hätte, ehe meine Arbeit erschien, so muß ich dagegen Protest erheben, denn während ich festgestellt habe, daß die Ratten die Infektion mit *Trypanosoma lewisi* durch Ablecken des von den Flöhen während des Saugaktes abgegebenen Kotes erwerben, hat er den Kot von *Conorhinus* intraperitoneal eingespritzt, und zwischen intraperitonealer Einspritzung und Auftragen des Kotes auf die unverletzte Zungenschleimhaut der Versuchstiere dürfte doch ein gewaltiger Unterschied bestehen. Seine genaueren Versuche, welche später für *Conorhinus* in einwandfreier Weise die Möglichkeit der Infektion durch die unverletzte Schleimhaut zeigten, sind erst nach Erscheinen meiner Arbeit veröffentlicht worden. In einer weiteren Arbeit hat er dann 1913 die Entwicklung und Übertragung verschiedener weiterer Trypanosomenarten durch Flöhe und Wanzen festgestellt. Er hat das Rattentrypanosoma auch durch *Ceratophyllus hirundinis* übertragen. Das *Trypanosoma Nabiasi* Railliet 1895 hat er durch den Kaninchenfloh[1]) übertragen können. Das *Trypanosoma Blanchardi* Brumpt 1905 hat er durch *Ceratophyllus laverani* Roths. übertragen. Das *Trypanosoma Duttoni* Thiroux 1905 hat er durch *Ceratophyllus hirundinis* übertragen können. Außerdem hat er bei dem Eichhörnchenfloh[1]) eine *Leptomonas* gefunden, die er *Herpetomonas Debreuili* genannt hat.

Nachträge zur Technik.

Die Methode der Benutzung gefesselter Flöhe bei den Übertragungsversuchen hat in den beiden Jahren bereits Eingang als Demonstrationsmethode und als Arbeitsmethode in den Pestlaboratorien gefunden. Da mir über die genaue Technik der Fesselung häufig Anfragen zugegangen sind, so will ich hier kurz auf einiges Ergänzende eingehen.

Besondere Schwierigkeit macht manchmal die Beschaffung eines geeigneten Drahtes, mit dem man die Flöhe gut fesseln kann. Am besten hat sich mir reiner Silberdraht bewährt, der eine Dicke von 0,15 mm besaß. Da aber reiner Silberdraht von dieser Stärke nicht immer leicht zu beschaffen ist, so habe ich in letzter Zeit mit verschiedenen anderen Drahtsorten vergleichende Versuche angestellt. Kupferdraht, wie er in Handlungen elektrischer Bedarfsartikel leicht erhältlich ist, hat sich mir ebensogut bewährt wie Wenyon, der seinen Gebrauch schon 1912 vorschlug. Doch ist zu beachten,

[1]) Der Artname der betreffenden Flöhe ist in der Arbeit nicht angegeben.

daß der Kupferdraht nicht über 0,15 mm dick ist, da er meist weniger geschmeidig ist als reiner Silberdraht. Besonders brauchbar ist Draht, wie er zum Umspinnen von Saiten benutzt wird und

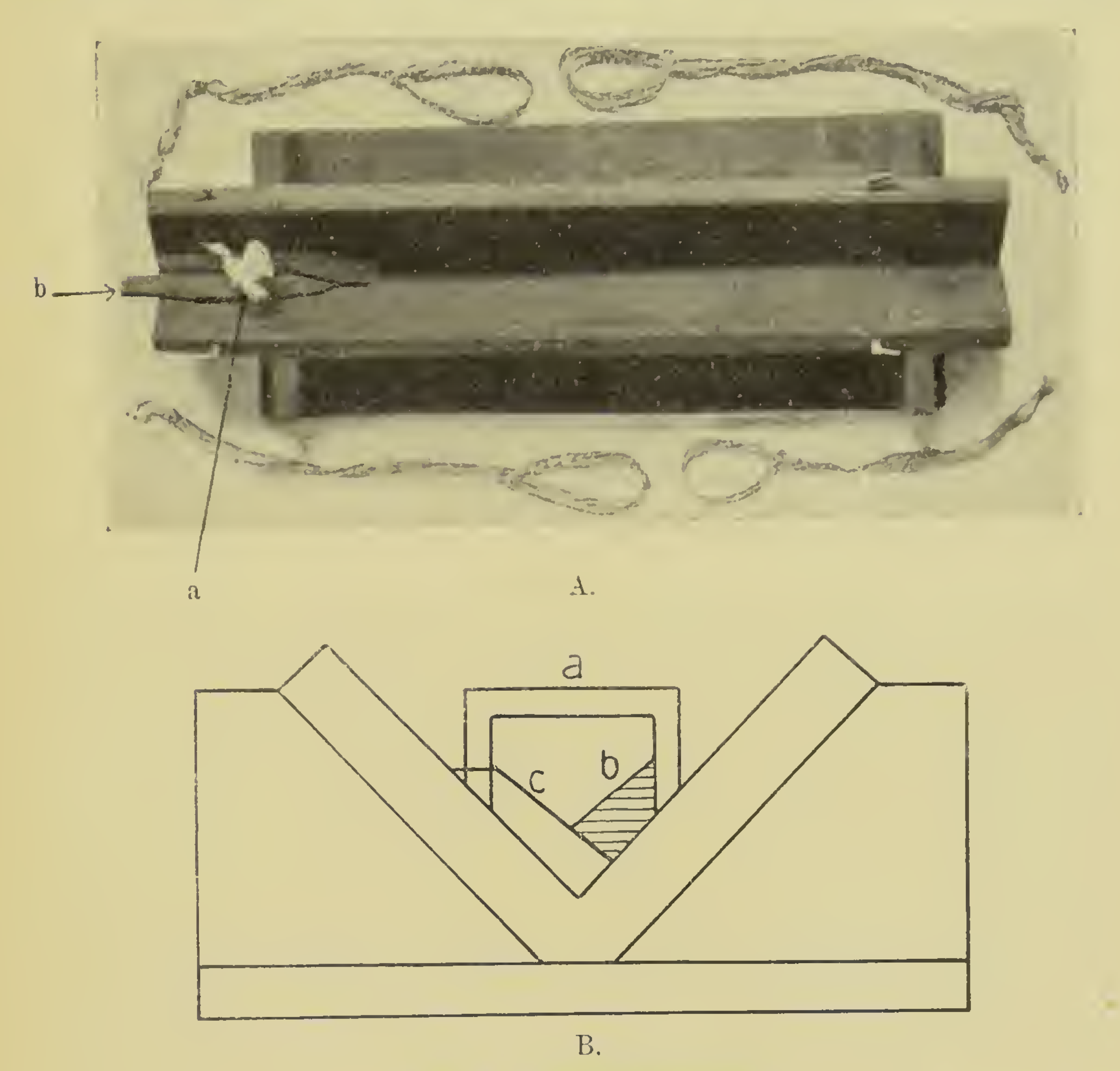


Fig. 6. Rattenspannbrett.

A. Rattenspannbrett von oben gesehen. a) Mit Band umwundener Metallsteg zum Festhalten der Oberkieferschneidezähne der Ratte. b) Einschiebbare Hälfte des Holzkeiles.

B. Querschnitt durch das Spannbrett bei a. a) Metallsteg. b) Einschiebbarer Teil des Holzkeiles, der unter den Kopf der Ratte untergeschoben wird. c) Fester Teil des Holzkeiles.

zwar habe ich hier mit Vorliebe die Kupfersilberlegierung mit der Drahtnummer 18 benutzt. Dieser Draht besitzt nach mikroskopischen Messungen eine Stärke von 0,11 bis 0.12 mm.[1])

[1]) Den Hinweis auf solchen Draht verdanke ich Dr. Schömmer. Ich bezog den Draht von L. Breitenberger, Saiteninstrumentenmacher, München, Kapuzinerstraße 19.

Viel Schwierigkeit macht auch die Beschaffung geeigneter Rattenspannbretter. Die Lautenschläger'schen Rattengestelle haben für die Versuche mit gefesselten Flöhen den großen Nachteil, daß die Ratten sehr oft zucken und unruhig werden, weil sie mit dem Rücken flach auf dem Brett aufliegen und ihre Seitwärtsbewegungen deshalb nicht gehindert werden. Deshalb habe ich in letzter Zeit ein selbstgebautes Rattengestell zur Anwendung gebracht, welches die Seitwärtsbewegungen der Ratte durch seitliche Bretter vollkommen unmöglich macht. Die Befestigung des Kopfes geschieht durch Einklemmen der Oberkieferschneidezähne zwischen einen Metallsteg und einen untergeschobenen Holzkeil, der den verschiedenen Größen der Ratten angepaßt ist. Die Befestigung der Füße geschieht durch eingeweichte breite Bänder, welche an vier Haken befestigt werden. Die genaue Technik dieser Aufspannmethode wird aus der beigegebenen Textfigur 6 ersichtlich.

Um stets eine genügende Anzahl von Hundeflöhen zur Hand zu haben, habe ich 1913 gemeinsam mit Herrn Kollegen Hobmaier die Züchtung der Flöhe mit Hilfe einiger stark verflöhter Hunde begonnen. Auf diese Weise ist es mir auch gelungen, stets zahlreiche Hundeflöhe und Hundeflohlarven zu meiner Verfügung zu haben. Auch Hühnerflöhe habe ich in letzter Zeit gezüchtet. Der Ausgangsstamm stammt aus dem thüringischen Orte Gösselborn (Schwarzburg-Rudolstadt). Die Flöhe und Flohlarven, die mir von dort geschickt worden waren, wurden in einen Korb gebracht, auf dessen Boden sich Sägemehl und Kehricht befand. Auf diese Schicht wurde dann etwas Stroh und Heu gelegt und zu diesem Korbe ein Huhn in einen Käfig gesetzt. Da das Huhn diesen Korb mit Vorliebe zur Ruhestätte benutzt, haben die Flohlarven auch im Winter die genügende Wärme zu ihrer Entwicklung und die Flöhe Gelegenheit zum Blutsaugen. Auf diese Weise habe ich mitten im Winter stets genügend Hühnerflöhe und Hühnerflohlarven zu meinen Untersuchungen vorrätig gehabt. Über die genaue Technik der Hundeflohzucht wird Herr Kollege Hobmaier später berichten. [1])

Bei der Präparation der Flöhe habe ich die 1912 beschriebene Art beibehalten. Auf diese Weise lassen sich auch die schlankeren Hühnerflöhe sehr gut präparieren. Bei der Präparation der Larven trennte ich mit einer scharf geschliffenen Lanzettnadel zunächst den Kopf und dann das letzte Segment ab. Der Darm quillt daraufhin

[1]) Unser Vorgehen beruhte im Prinzip darauf, daß unter dem Lager der Hunde die Larven in Sägemehl und Kehricht zusagende Nahrungs- und Aufenthaltsbedingungen fanden.

ohne weiteres aus der vorderen Schnittöffnung hervor und kann mit der Lanzette herausgezogen werden, während man mit einer scharfen Präpariernadel das vorletzte Chitinsegment der Larve festhält. Ein Zerreißen des Darmkanales findet dabei nur selten statt. Der herauspräparierte Darmkanal der Flöhe wurde, falls er nicht sofort zu Ausstrichpräparaten benutzt wurde, in konzentrierter Sublimatlösung fixiert, in Alkohol ausgewaschen, mit Eosin stark angefärbt und nach Entwässerung in Alkohol in Paraffin eingebettet. Beim Umbetten von einer Paraffinstufe in die andere benutzte ich kleine erwärmte Metallspatel, mit denen der angefärbte Darm aus den Blockschälchen, in denen sich das Paraffin befand, ohne Schwierigkeit aufzunehmen und in die nächste Stufe überzulegen ist. Beim Aufkleben der Serienschnitte benutzte ich mit Vorteil Glycerineiweiß, da von nicht aufgeklebten Schnitten beim Färben und Differenzieren in der Regel die meisten abschwimmen, selbst wenn man die auf den Objektträger aufgezogenen Schnitte einen oder mehrere Tage im Brutschranke bei 37° C aufbewahrt hat. Zum Färben wurden zahlreiche Methoden benutzt. Am meisten Anwendung fanden Hämalaun, Hämatoxylin nach Delafield, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain und nach Rosenbusch. Für die Schnitte fand auch die Giemsafärbung in der Modifikation nach Schuberg, für die Trockenpräparate die einfache Giemsafärbung Anwendung. Bei *Legerella* ergab die Beizung mit Eisenalaunlösung, die nachträgliche Färbung in Hämatoxylin nach Heidenhain und die Differenzierung mit schwachem (0,5 proz.) salzsaurem Alkohol sehr gute Präparate, da diese Art der Färbung die Nachteile des Eisenhämatoxylins nach Heidenhain, d. h. die starke Schwärzung einzelner Chromatinbrocken und die vollkommene Entfärbung des übrigen Chromatins beim Differenzieren nicht besitzt.

Mit Safranin-Lichtgrün habe ich brauchbare Präparate bei *Legerella* bisher nicht erzielt.

Was das Verhalten der Flöhe beim Saugakte anbelangt, so habe ich über den Hundefloh wenig Neues hinzuzufügen. Daß man die Saugakte nicht solange auszudehnen braucht, wie ich es 1912 angegeben habe, ist ja verständlich; auch verträgt der Hundefloh ein- oder mehrtägige Hungerperioden ohne jeden Schaden, wenn die Außentemperatur nicht allzuhoch, d. h. nicht wesentlich über + 25° C beträgt. Immerhin ist jedoch eine zu starke Verkürzung der Saugakte nicht geboten, da sie von den natürlichen Verhältnissen abweicht, denn da der Hundefloh als ständiger Parasit des Hundes hier stets Gelegenheit zum Saugen hat, so ist nicht anzunehmen, daß er hier

weniger saugt als auf den Ratten, auf denen ich ihn gelegentlich 4 Stunden lang beim Saugen beobachten konnte. Wenn ihm Gelegenheit zum Saugen geboten wird, so saugt er eben auch, wenn er seinen Nahrungsbedarf schon längst gedeckt hat und mit seinem Kote das reine aufgenommene Blut wieder abgibt.

Der Hühnerfloh, dessen Weibchen sich ebenso leicht mit Silberdraht fesseln lassen wie die des Hundeflohes, verhält sich beim Saugen wesentlich anders. Es gelingt ohne weiteres, ihn bei täglich einstündiger Fütterung auf festgespannten Ratten wochenlang am Leben zu erhalten. Während der Saugakte gibt er überhaupt keinen oder höchstens ein einziges Tröpfchen Kot ab. Daß er wirklich Rattenblut aufnimmt und nicht etwa nur sich auf den Ratten eine Woche lang am Leben erhält, geht aus dem mikroskopischen Befunde hervor. Zerlegt man einen Hühnerfloh, der vorher auf Ratten Blut gesogen hat, das mit Trypanosomen infiziert war, so lassen sich in seinem Magen ohne weiteres die Rattentrypanosomen in Menge nachweisen.

Parasiten der Flöhe.

Für jeden, der mit Flöhen Übertragungsversuche bei Trypanosomen oder Leishmanien anstellen will, ist eine exakte Kenntnis der Parasiten der Flöhe unerläßlich. Besondere Aufmerksamkeit erfordern zwar nur die trypanosomenähnlichen Flagellaten, weil sie sehr leicht mit Entwicklungsformen von Trypanosomen verwechselt werden können und, wie die neuere Geschichte der Kala-Azar-Forschung beweist, sehr oft als Entwicklungsformen der Leishmanien, besonders der *Leishmania infantum* angesprochen worden sind. Aber auch die Gregarinen erfordern die Aufmerksamkeit derjenigen, welche etwa Übertragungsversuche mit dem Hundebandwurm *Taenia cucumerina* anstellen wollen, weil ihre Anwesenheit im Darme der Hundeflohlarven lästig werden kann und ihre Cysten dem Untersucher unbedingt bekannt sein müssen.

Literatur.

Die ersten Angaben über Flagellaten im Darme von Flöhen stammen von Balfour, der im Jahre 1906 in dem Floh *Laemopsylla cleopatrae* einen Flagellaten fand, den er 1908 *Crithidia pulicis* nannte und abbildete. Patton fand 1908 in *Ctenocephalus felis* in Indien eine *Leptomonas*, die auch die Malpighi'schen Gefäße befallen soll. Im Hundefloh (*Ctenocephalus canis*) fanden Swellengrebel und Strickland 1910 ovale Ruhestadien einer *Leptomonas*.

Dieser Parasit wurde 1911 von MARZOCCHI in Italien gesehen und von mir 1911/12 in Berlin aufgefunden und untersucht. Später tauften diesen Flagellaten FANTHAM 1912 (*Herpetomonas ctenocephali*) und BRUMPT 1913 (*Herpetomonas pseudoleishmania*). Prioritätsrechtlich gilt der von FANNTHAM gegebene Name.

MACKINNON fand 1909 in dem Rattenfloh *Ctenophtalmus agyrtes* eine *Leptomonas*, die sie *Herpetomonas ctenophtalmi* taufte und in dem Maulwurfsfloh *Hystrichopsylla talpae* einen Flagellaten, den sie *Crithidia hystrichopsyllae* benannte. In *Ctenophtalmus agyrtes* hatten PATTON und STRICKLAND schon einen Flagellaten, der aber wohl nur Entwicklungsformen des Rattentrypanosomas darstellt, aufgefunden und *Crithidia ctenophtalmi* benannt. SWINGLE entdeckte 1911 in den Rattenflöhen *Ceratophyllus* sp. (*lucifer* ROTSCH. ?) *Pulex* sp. (*brasiliensis* BAKER ?) einen Flagellaten und nannte ihn *Herpetomonas pattoni*. PORTER fand 1911 in dem gewöhnlichen Menschenfloh einen Flagellaten mit echter undulierender Membran, also eine echte *Crithidia*, die sie *Crithidia pulicis* nannte. Da sie den Flagellaten auch in Flöhen fand, die sie seit ihrem Ausschlüpfen aus der Puppe nur mit ihrem eigenen Blute genährt hatte, weist sie mit Nachdruck darauf hin, daß dieser Flagellat zu irgendwelchen Trypanosomen keine Beziehung hat. PATTON erwähnt 1912 neben dem Vorkommen der *Leptomonas* im Katzenfloh noch eine *Leptomonas* aus dem indischen Nagetierfloh *Ceratophyllus alladinis*. WENYON beschreibt 1912 aus *Pulex irritans* eine echte *Leptomonas* (*Herpetomonas*), die also keine undulierende Membran besitzt und deren Kultur ihm im Kondenswasser von Kaninchenblutagar gelang. 1913 hat er von diesem Flagellaten die Kernteilung eingehend beschrieben. BRUMPT erwähnt dann 1913, wie schon angeführt, daß der Eichhörnchenfloh (*Pulex Sciurorum* BOUCHÉ) eine *Leptomonas* beherbergt und benennt diese *Herpetomonas Debreuili*. LAVERAN und FRANCHINI haben in mehreren Arbeiten gezeigt, daß es experimentell möglich ist, durch Einspritzung von Hundefloh- und Rattenflohleptomonaden bei Säugetieren Infektionen zu erzeugen, die mit *Leishmania*-Infektionen Ähnlichkeit besitzen, Versuche, die für Kala-Azar-Forschung Bedeutung haben.

In den Flohlarven haben die Flagellaten bisher nur PORTER 1911 und CHATTON und DELANOE 1912 und PATTON 1908, 1912 aufgefunden und zwar PORTER die *Crithidia pulicis* in den Larven des Menschenflohes und CHATTON und DELANOE die *Leptomonas pattoni* in den Larven von *Ceratophyllus fasciatus* und PATTON Leptomonaden in den Larven von *Ctenocephalus felis* und *Ceratophyllus alladinis*.

Gregarinen waren in Flöhen beobachtet worden von Leuckart im Jahre 1861, der in Flohlarven welche gesehen hat. Dann beschrieb Ross 1909 in Hundeflöhen aus Ägypten eine Gregarine, die er *Greg. ctenocephali canis* nannte. Swingle erwähnt 1911 das Vorkommen von Gregarinen in dem Rattenfloh *Pulex* sp. (*brasiliensis* Baker ?). 1911 beschrieb Wellmer aus den Larven von *Ceratophyllus gallinae* und *C. fringillae* eine Gregarine mit achthakigem Epimerit und nannte sie *Actinocephalus parvus*. 1912 beschrieb Strickland aus den Larven des Rattenflohes *Ceratophyllus fasciatus* eine Gregarine unter dem Namen *Agrippina bona*. Ashworth und Rettie geben 1912 ein vollständiges Verzeichnis der in Flöhen und Flohlarven aufgefundenen Gregarinen und beschreiben aus dem Magen von *Ceratophyllus styx* unter dem Namen *Steinina rotundata* eine neue Gregarine.

Balfour fand 1905 in *Laemopsylla cleopatrae* Sporen einer Coccidienart und vermutet, daß die Sporen wegen ihrer Ähnlichkeit mit Entwicklungsstadien der Hämogregarinen einer solchen der Gattung *Haemogregarina* zugehören und zwar der *H.* (*Hepatozoon*) *jaculi* Balfour, mit der die Nager infiziert waren, von denen die betreffenden Flöhe stammten.

Von Cnidosporidien habe ich 1912 im Hundefloh ein Microsporid der Gattung *Nosema* unter dem Namen *Nosema pulicis* kurz beschrieben. Es ist von Interesse, daß von jener Gattung die ja die bekannten Erreger der Pebrinekrankheit der Seidenraupen und der Nosemaseuche der Bienen enthält, auch beim Hundefloh ein Vertreter vorkommt.

Aus den Malpighi'schen Gefäßen des Rattenflohes *Ceratophyllus fasciatus* hat Minchin 1910 ein Protozoon unter dem Namen *Malpighiella refringens* beschrieben und glaubt, daß dieser Parasit zu den Amöben zu stellen ist.

Eigene Untersuchungen über die Parasiten der Flöhe.

1. *Leptomonas ctenocephali* Fantham 1912 = *Herpetomonas ctenocephali* Fantham 1912 = *Herpetomonas pseudoleishmania* Brumpt 1913.

Dieser Flagellat hat in der Kala-Azar-Forschung eine verhängnisvolle Rolle gespielt. Basile, Sangiorgi, Alvarez, Pereiera da Silva, Sergent, L'Héritier und Lemaire haben diesen Flagellaten als Entwicklungsform von *Leishmania infantum* angesprochen, nachdem Sangiorgi und Basile die Vermutung ausgesprochen hatten,

daß der Hundefloh und der Menschenfloh die Überträger der Kala-Azar-Parasiten seien. Nachdem ich bereits 1912 darauf hingewiesen hatte, daß diese Flagellaten beim Hundefloh auch in Kala-Azar-freien Gegenden (Berlin) vorkommen und hier sogar recht häufig sein können, hat WENYON für England meine Befunde bestätigen können und GABBI und SCORDO haben sich der von mir geübten Kritik vollkommen angeschlossen. Die Kalar-Azar-Frage ist auch nach den neuesten Veröffentlichungen noch nicht als gelöst zu betrachten. Denn nach den Untersuchungen von WENYON ist es nicht wahrscheinlich geworden, daß Leishmanien im Darmkanal der Flöhe wirklich eine Entwicklung durchmachen. Ich habe in München die Untersuchungen über den Flagellaten fortgeführt und habe mein Augenmerk besonders auf die Hundeflohlarven gerichtet und in der Tat zeigte sich, daß sie zu einem ziemlich großen Prozentsatz infiziert sind. Die *Leptomonas*-Formen zeigen besonders bei ganz jungen Larven eine viel schlankere Gestalt, als man sie gewöhnlich bei dem Hundefloh antrifft. Flagellaten mit typischer undulierender Membran, für die ich den Namen *Crithidia* gebrauche, habe ich bis heute bei Hundeflöhen oder Hundeflohlarven noch nicht auffinden können. Deshalb bin ich heute wie WENYON davon überzeugt, daß die *Leptomonas ctenocephali* von der *Crithidia pulicis* PORTER's verschieden ist. Ich habe auch versucht, diesen Flagellaten zu züchten, indem ich von Flöhen, die vorher in 60 proz. Alkohol untergetaucht worden waren, den Darm unter aseptischen Bedingungen herauspräparierte, in einem Tröpfchen physiologischer Kochsalzlösung zerzupfte und davon Platinösen in je 1 Blutagarröhrchen einsäte. In mehreren der Röhrchen wuchsen in der ersten Woche echte Leptomonaden, doch ist es mir bisher nicht gelungen, sie in Reinkultur zu gewinnen, da die Röhrchen alle nachträglich durch Coccen überwuchert wurden. Deshalb habe ich auch bisher auf die intraperitoneale und intravenöse Einspritzung der Kulturformen bei Hunden und Katzen verzichten müssen. Versuche, die zur Klärung der Kala-Azar-Frage von Wichtigkeit wären, weil sie die Frage prüfen würden, ob die in normaler Weise nur als Flohparasiten lebenden und sich durch ovale Dauercysten verbreitenden Flohflagellaten unter bestimmten Bedingungen eventuell doch für den Menschen und für andere Tiere pathogen wirken könnten. Versuche, die dringend erwünscht wären, nachdem LAVERAN und FRANCHINI angegeben haben, daß es experimentell gelingt, Versuchstiere mit diesen Flagellaten zu infizieren.

Es ist zu verwundern, daß Wenyon, dem doch Reinkulturen der *Leptomonas* aus dem Menschenfloh zur Verfügung standen, derartige Versuche bisher nicht unternommen oder doch nicht veröffentlicht hat. Indessen dürfte auch schon die Auffindung des Flagellaten bei den Hundeflohlarven genügen, um ihn mit Sicherheit als spezifischen Flohparasiten anzusprechen, der sich vom Kote des erwachsenen Flohes aus auf die Flohlarven und von Larve zu Larve verbreitet, ohne einen Wirbeltierwirt zu brauchen.

2. *Leptomonas spec.*[1])

(Tafel 1 Fig. 1 u. 2.)

Im September 1913 fand ich bei Hühnerflöhen (*Ceratophyllus gallinae* Schrank) und deren Larven und in Taubenflöhen (*C. columbae* Walcken. und Gerv.) eine weitere *Leptomonas* in Thüringen, die bei diesen Flöhen und bei deren Larven außerordentlich häufig, zum Teil bei nahezu 50 Proz. vorkam. Die *Leptomonas* mißt in ihren vegetativen Formen ungefähr 10—14 μ in der Länge ohne Geißel, deren Länge allein noch 8—16 μ beträgt. Eine undulierende Membran wurde nie beobachtet. Die ovalen bis länglichen Ruheformen messen 3—7 μ in der Länge und 2—3 μ in der Breite. Die Flöhe und Flohlarven, die mit diesem Parasiten infiziert sind, zeigen ihn meist in ungeheuren Massen. Der ganze Dünndarm und oft noch das Rektum sind mit einem Polster von Flagellaten bekleidet. Eine besondere Eigentümlichkeit, durch die sich der Flagellat von anderen Flohleptomonaden unterschiede, habe ich bisher nicht auffinden können: das oft abnorm spitz ausgezogene Hinterende läßt sich ja als solches Merkmal nicht ansprechen, da es gelegentlich auch bei den anderen Arten vorkommt. Infolge der ungeheuer starken Infektion, die bei diesem Parasiten die Regel ist, läßt sich der Flagellat in seinen vegetativen und in seinen Dauerformen im Kote der Hühnerflöhe stets in ungeheuren Massen nachweisen, oft zu Hunderten in einem einzigen Kottröpfchen. Den Hühnerflohkot gewann ich entweder von den gefesselten Flöhen, die auf weißen Rattenhaaren in Petrischalen aufbewahrt wurden. Durch Aufnahme der Kottröpfchen in ein Tröpfchen physiologischer Kochsalzlösung und Herstellung von Trocken-Giemsa-Ausstrichen gelingt der Nachweis ohne weiteres. Noch einfacher kann man vorgehen, wenn man 10—15 Hühnerflöhe

[1]) Von einer Benennung sehe ich ab, da sich morphologische Besonderheiten, die den Parasiten gegen andere Flohleptomonaden abgrenzen würden, nicht auffinden ließen.

in ein weithalsiges Gläschen steckt, die Mündung des Glases umstülpt und auf einem Objektträger mit Wachs festmacht. Am anderen Tage haben die Flöhe auf den Objektträger mehrere Kottröpfchen abgegeben, die mit physiologischer Kochsalzlösung verteilt und zu einem Giemsa-Ausstrich verarbeitet werden können. Daß auch dieser Flagellat mit Trypanosomen oder Leishmanien nichts zu tun hat, geht schon aus seinem Vorkommen bei den Flohlarven hervor. Doch habe ich auch das Blut der jungen Tauben aus den Taubennestern, aus denen ich die Taubenflöhe bezog, in Ausstrich untersucht, habe jedoch nie ein *Trypanosoma* oder eine *Leishmania* auffinden können. Auch habe ich das Blut eines Huhnes, das in München monatelang vielen infizierten Hühnerflöhen als Nahrungslieferant diente, kulturell in Kondenswasser von inaktiviertem Schafblutagar untersucht, doch sind auch in den Kulturröhrchen keine Flagellaten gewachsen. Doch sei hier darauf hingewiesen, daß die Brüder Sergent in Algier bei einer Taube im Blute einmal eine *Leptomonas* fanden, die sie 1907 beschreiben und abbilden.

3. *Gregarinen.*

Bei sämtlichen Hühnerfloh- und Taubenflohlarven aus Thüringen, die ich hier in München weiter fortgezüchtet habe, fand ich im Mitteldarme massenhaft die von Wellmer beschriebene Gregarine *Actinocephalus parvus*. Larven ohne Gregarinen habe ich bisher nicht gefunden. Bei den erwachsenen Flöhen dagegen fand ich bisher die Gregarinen im Magen nie, obgleich ich doch schon eine große Anzahl Hühnerflöhe seziert habe. Ein einziges Mal fand ich im Schnitt von Hühnerflohmagen Sporen der Gregarine in der Nähe des Proventriculus.

Bei den erwachsenen Hundeflöhen habe ich Gregarinen bisher nicht auffinden können. Die Hundeflohlarvenzucht, die ich im Sommer und Herbst 1913 mit Herrn Kollegen Hobmaier eingerichtet hatte, zeigte nie eine Gregarineninfektion, obgleich zu jener Zeit von Herrn Hobmaier und mir zahlreiche Flohlarven seziert und untersucht worden sind. Erst Anfang 1914, einige Monate nachdem ich die Hühnerflohlarven aus Thüringen in die Institutstallung in die Nähe der Hundeflohzucht gebracht hatte, zeigten mit einemmal sämtliche Hundeflohlarven eine sehr starke Gregarineninfektion mit einer der Hühnerflohlarvengregarine sehr ähnlichen, wohl identischen Form, die auch ein mit Haken versehenes Epimerit besitzt. Die Zahl der Haken festzustellen, ist mir bisher nicht genau gelungen, da die meisten erwachsenen Gregarinen das Epimerit bereits

abgestoßen haben und deshalb Vertreter der Gattung *Gregarina* vortäuschen. Doch ist die Hakenzahl keine sehr große und es ist sehr wahrscheinlich, daß die Gregarine mit dem *Actinocephalus parvus* Wellmer identisch ist und daß die Infektion erst durch die Einführung der Hühnerflohlaren zustande gekommen ist, da vielleicht mit den Sammelbrettern, auf denen ich die Larven auszulesen pflegte, gelegentlich Gregarinencysten von der Hühnerflohzucht in die Hundeflohzucht hinübergebracht worden sind. Ob diese Gregarine mit der von Ross beschriebenen identisch ist, kann ich nicht feststellen, da mir die Originalarbeit von Ross nicht zugänglich war. Besonders auffällig war bei den Hundeflöhen das häufige Vorkommen von Cysten, in denen sich drei Gregarinen zusammen encystierten.

4. *Legerella parva* Nöller 1913.

Bei den Hühnerflöhen und Taubenflöhen, die ich im September 1913 in Thüringen zu untersuchen Gelegenheit hatte, fand ich bei 25—40 Proz. in den Malpighischen Gefäßen ein zu den Adeleidae gehöriges monospores Coccid, das ich in die Gattung Legerella unter dem Namen *L. parva* eingestellt habe. Da von der Gattung Legerella bisher nur *Legerella nova* Schneider und *Legerella testiculi* Cuénot bekannt sind, welche beide in Glomerisarten vorkommen und bedeutend größer sind, so besteht kein Zweifel darüber, daß es sich hier um eine neue Art handelt. Besonderes Interesse gewann dieser Fund dadurch, daß sich bei der großen cytologischen und verwandtschaftlichen Ähnlichkeit mit dem neuerdings von Reichenow ausführlich studierten *Karyolysus lacertae* hier ein Übergang von den nicht wirtswechselnden Adeleiden zu den Hämogregarinen ergibt, weil *Legerella parva* das erste in einem blutsaugenden Arthropoden aufgefundene hämogregarinenähnliche Coccid darstellt; dadurch gewinnt die Ableitung der Hämogregarinen durch Reichenow von den Coccidien der Adeleidengruppe eine neue Stütze. Bei den Larven des Hühnerflohes und des Taubenflohes habe ich das Coccid bisher noch nicht aufgefunden, doch scheint es auch hier vorzukommen, da ein soeben aus der Puppe ausgeschlüpfter Hühnerfloh bei seiner Sektion bereits mit *Legerella* infiziert war. Der Parasit sitzt in den Epithelien der Malpighischen Gefäße der Flöhe und zwar sind die Infektionen meist so stark, daß fast jede Zelle ein- oder mehrmals befallen ist. Dabei sitzen in den dem Pylorus nächstliegenden Teilen der Malpighischen Gefäße die Merozoiten und Schizonten, in den mittleren Teilen die Befruchtungsstadien und in

den Endteilen die fertigen Sporocysten, die nach Zerstörung der Zellen durch das Lumen der Malpighischen Gefäße nach dem Darme zu hinabwandern. Im Magen der Hühnerflöhe habe ich das Coccid bisher nicht gesehen, dagegen fand ich es mehrfach im blutgefüllten Magen von Taubenflöhen. und zwar waren es wohl meist die eine frische Infektion erzeugenden, schon heranwachsenden und etwas

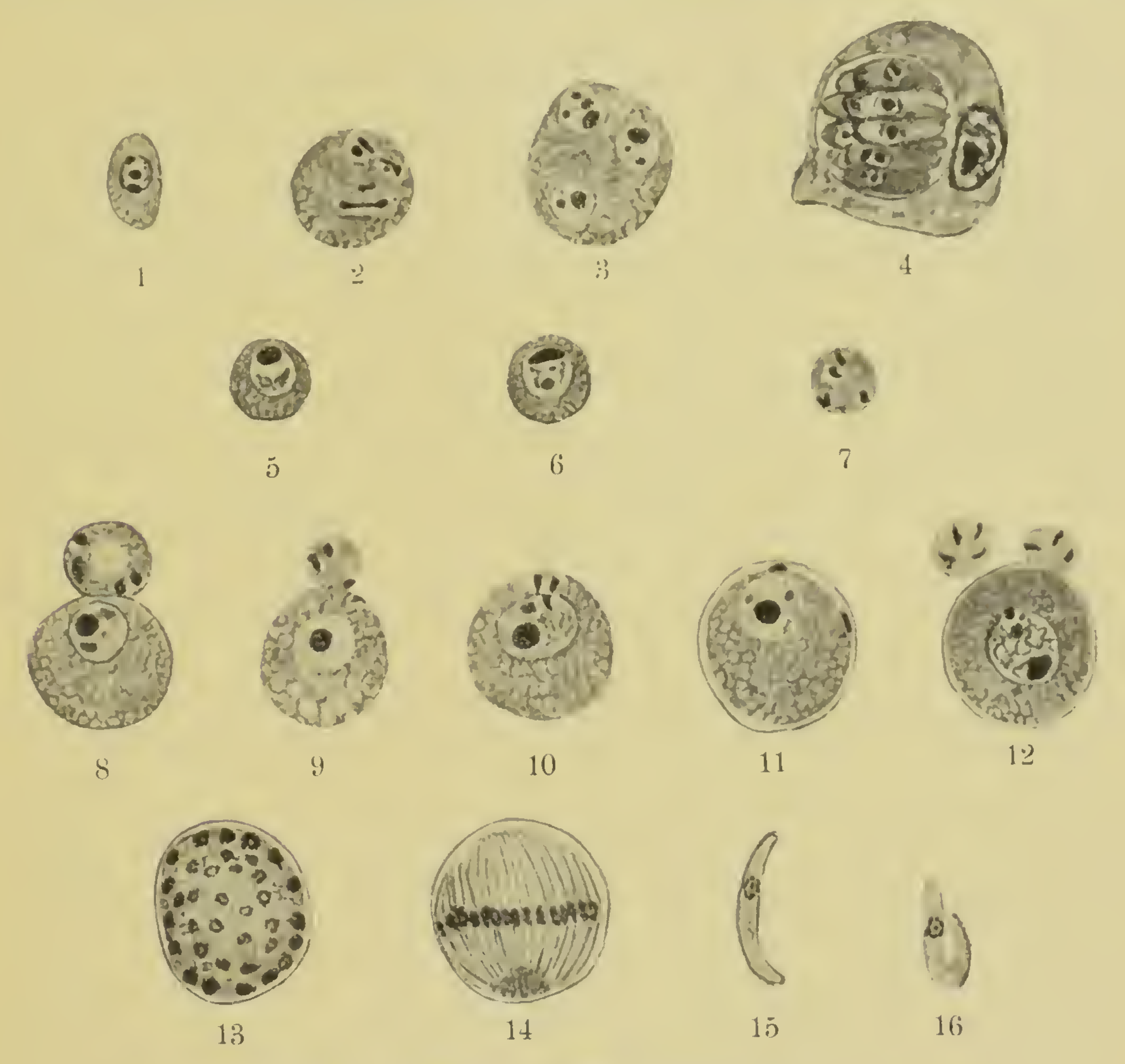


Fig. 7. *Legerella parva*. Vergr. 1030 ×.
Färbung mit Hämalaun, Hämatoxylin nach Delafield und Heidenhain.
1. Junger Merozoit. 2—4. Schizonten. 5—7. Mikrogametocyten.
8—12. Befruchtungsstadien. 13 u. 14. Sporenbildung. 15 u. 16. Sporozoiten.

verkürzten Sporozoiten, die mich im Anfang nach Trockenpräparaten fast zu der Ansicht gebracht hätten, es handle sich hier um eine, bei den jungen Tauben vorkommende Hämogregarine. Da ich aber bei den jungen Tauben, aus deren Nestern die Flöhe stammten, nie eine Hämogregarineninfektion auffinden konnte. und ich auch bald die Schizogonie in den malpighischen Gefäßen fand, so war es klar, daß

die aufgenommenen Sporozoiten hier in dem Magen eine geringere Zeit verweilen und in ihrem Kernbau geringe Umwandlungen durchmachen, die sie wegen des kompakten Randkörpers den Merozoiten ähnlich machen. Die Schizonten erwachsen aus ziemlich kurzen ovalen, 6—8 μ langen und 2—4 μ breiten Merozoiten, die in ihrem Kern einen mit Eosin stark färbbaren Innenkörper und in dem ringförmigen und schwach ausgeprägten Außenchromatin einen kompakten, stark färbbaren basichromatischen Randkörper, das sog. Caryosom zeigen. Bei der Teilung der Kerne in den runden 10 bis 15 μ großen Schizonten ist es hauptsächlich dieser stark färbbare Randkörper, der wegen seiner intensiven Färbung das ganze Bild beherrscht, während das andere Chromatin und auch der Binnenkörper gänzlich verschwinden, wenn man die Präparate genügend ausdifferenziert. Die Teilung dieses Randkörpers, in dem sich weitere Einzelheiten nicht wahrnehmen lassen, erfolgt erst, wie das auch Reichenow für *Karyolysus* abgebildet hat, durch Streckung; beim Trennen und Auseinanderweichen der Hälften bleibt dann ein, auch mit Delafield's Hämatoxylin deutlich nachweisbarer Faden vorhanden. Die Zahl der Merozoiten läßt sich in den Schnittpräparaten nicht ohne weiteres genau feststellen. Doch dürfte sie meist zwischen 8 und 20 schwanken. Die jungen Merozoiten zeigen ebenfalls den beschriebenen Kernbau. Die Befruchtung erfolgt, wie es für die Adeleiden typisch ist, durch Anlegen des Mikrogametocyten an den runden großen Makrogametocyten, in dessen Kern sich der sehr stark färbbare exzentrisch gelegene Randkörper und neben diesem ein meist halbmond- bis sichelförmig gestalteter, weniger stark färbbarer Chromatinfleck nachweisen läßt. Eine Reduktion am Makrogameten konnte nicht beobachtet werden. Das Eindringen eines der 4 Mikrogameten in den Makrogameten habe ich in meinen Präparaten mehrfach zu verfolgen Gelegenheit gehabt, doch sind mir bisher die genaueren Vorgänge bei der Kernverschmelzung und der ersten Kernteilung entgangen, da sich diese Vorgänge im Schnittpräparate weniger klar zeigen lassen, als im Ausstrichpräparate, dessen Herstellung aber bei der Festigkeit der Umhüllung der Malpighischen Gefäße meist nur mangelhaft gelingt. Die Zygote, die einen Durchmesser von 16—20 μ hat, zeigt nun rapide Kernvermehrung und die Bildung einer einzigen doppeltkonturierten Hülle, die nicht sehr dick ist; die Bildung einer zweiten Hülle habe ich bisher nicht beobachten können, obgleich ich mehrfach den Kot infizierter Flöhe untersucht habe, weil er meist keine oder nur wenige Cysten enthält. Die Zahl der gebildeten schlanken, bis über

20 μ langen, 2—3 μ breiten Sporozoiten mag manchmal bis 60 betragen. Ihr Kern besteht nur aus unregelmäßig besonders an der Peripherie verstreuten, kleinen Chromatinbröckchen und hat eine ovale Gestalt. Ein Randkörper läßt sich nicht nachweisen. Die Einzelheiten mögen die beigegebenen Zeichnungen illustrieren.

5. *Nosema pulicis* Nöller 1912.

Dieser von mir in Berlin bei ca. 6 Proz. der untersuchten Hundeflöhe aufgefundene Parasit konnte in München bisher nicht wieder gefunden werden, obgleich ich auch hier schon eine große Reihe von Flöhen seziert habe. Deshalb beschränke ich mich auf

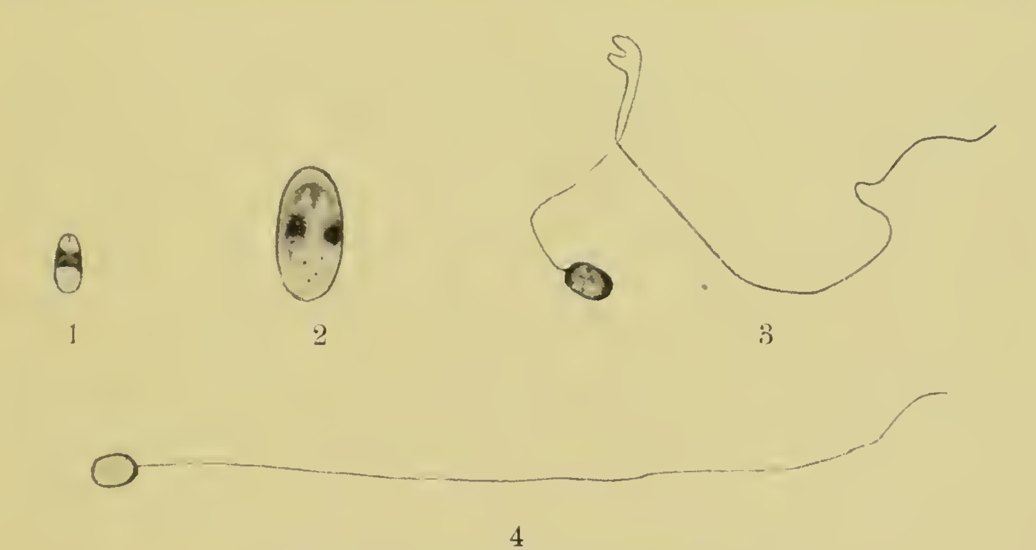


Fig. 8. Sporen von *Nosema pulicis*.
1. Färbung nach Heidenhain. 1950 ×. 2. Giemsa. 2700 ×.
3 u. 4. Polfäden ausgeschnellt. Giemsa. 1300 ×.

die Beigabe einiger Zeichnungen und Mikrophotogramme, die nach in Berlin angefertigten Präparaten hergestellt sind. (Beschreibung im 1. Teile S. 17; Taf. 2 Fig. 3 u. 4; Textfig. 8.)

6. *Malpighiella refringens* Minchin.

Dieser von Minchin entdeckte Parasit der malpighischen Gefäße des Rattenflohs ist in München beim Hundefloh ebenso häufig anzutreffen wie in Berlin (bei ca. 90 Proz.). Ich glaube nicht, daß er zu den Amöben zu stellen ist wie Minchin will, weil er ja keine geformte Nahrung aufnimmt.

Weitere eigene Untersuchungen über die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen durch Flöhe.

1. In welchem Infektionsstadium der Ratte infizieren sich die Flöhe am leichtesten mit Rattentrypanosomen?

Bereits SCHAUDINN hat bei seinen Untersuchungen über die Übertragungsweise der Trypanosomen des Steinkauzes den Formen der Trypanosomen, welche sich gerade im Blute der Eule befanden, besondere Aufmerksamkeit entgegengebracht und wußte auch schon, daß sich gewisse Trypanosomenformen im Überträger nicht entwickeln.[1] In der späteren Zeit ist aber dann der Umstand, in welchem Infektionsstadium sich das zu den Versuchen benutzte Wirbeltier gerade befand, meist vernachlässigt worden. Nur BALDREY hat bei seinen Übertragungsversuchen die Rattentrypanosomen durch die Rattenlaus gefunden, daß eine „Entwicklung" in der Laus nur dann stattfindet, wenn sich die Ratte noch in der Vermehrungsperiode der Trypanosomen befindet und daß eine Entwicklung ausbleibt, wenn die Infektion der Ratte bereits in das chronische Stadium übergegangen ist, währenddessen Teilungsformen im peripheren Blute fehlen. Bei den Glossinen war es dann eine bekannte Tatsache, daß bei Übertragungsversuchen stets nur ein geringer Prozentsatz der benutzten Schlafkrankheitsfliegen eine dauernde Infektion mit Trypanosomen erwarb (KLEINE u. a.). ROBERTSON, die in Uganda das Problem der Glossinenübertragung in Angriff genommen hat, hat dabei mit Nachdruck darauf hingewiesen, daß es nicht gleichgültig sei, welche Trypanosomen gerade im Blute zirkulieren.[2] Sie glaubt, daß die Infektion der Glossinen von bestimmten Formen (den kurzen Trypanosomen), die im peripheren Blute des gestochenen Tieres zirkulieren müssen, abhängig sei, und daß während anderer Perioden, während deren nach ihrer Ansicht sich die Trypanosomen in einer Art Depression befinden, eine Infektion der Glossinen nicht möglich ist. Ich fand 1912 bei meinen Versuchen, das Froschtrypanosoma durch den Egel *Hemiclepsis marginata* zu übertragen, daß sich die Kaulquappentrypanosomen, die sich

[1] Leider lassen sich aus den Angaben SCHAUDINN's keine sicheren Anhaltspunkte gewinnen, weil er Entwicklungsformen von Trypanosomen und von Hämosporidien (*Haemoproteus noctuae*) verwechselt hat.

[2] Vorher hat schon TODD auf diesen Punkt hingewiesen.

durch ihre Form von den bei den erwachsenen Fröschen vorkommenden mehr oder weniger veränderten Trypanosomen unterscheiden, aber sicher deren Jugendformen darstellen, die bei frischer Infektion vorkommen, in 100 Proz. der Egel entwickelten, die auf infizierten Kaulquappen gesogen hatten. Ließ ich dagegen die Egel auf erwachsenen Fröschen mit alter Infektion, bei der die Trypanosomen weitgehend verändert sind, Blut aufnehmen, so entwickelten sich die Trypanosomen in keinem Falle in dem Egel, obgleich die Versuche in ganz der gleichen Weise und bei ganz der gleichen Temperatur vorgenommen wurden wie die Versuche mit Kaulquappen. Deshalb schien es mir geraten, zu prüfen, ob sich die Flöhe auf frisch infizierten Ratten leichter infizieren, als auf chronisch infizierten.

Zu diesem Zwecke wurden aus der Hundeflohzucht, in der bei den Flöhen eine Infektion mit Trypanosomen nicht vorkommt, 3 Versuchsflöhe Nr. 6, 7 und 8, gefesselt und in der beschriebenen Weise am 3. II. 14 auf der am 26. I. 14 intraperitoneal mit Trypanosomen gespritzten Ratte Nr. 6 gefüttert. Der Saugakt dauerte über 1 Stunde. An den folgenden Tagen wurden die Versuchsflöhe 6—8 stets 1—2 Stunden auf weißen, nicht infizierten Vorratsratten gefüttert. Am 10. II. wurden die Flöhe seziert und genau zunächst im ungefärbten Präparat, dann im gefärbten, Trockenausstrich untersucht. Die Flöhe 6 und 7 zeigten in ihrem Dünndarm Rosetten und Flagellatenpolster und zwar beim Versuchsfloh 7 nur unmittelbar hinter dem Pylorus an der Dünndarmwand, während sich in dem hinteren Dünndarmabschnitte keine Flagellaten befanden. Im Rektum sah ich einzelne bewegliche Trypanosomen, die aber nicht angeheftet waren, sondern scheinbar nur von der Pyloruskrause abgeschwemmt waren. Der Versuchsfloh 6 zeigte das Flagellatenpolster in dem ganzen Dünndarm von der Einmündung der Malpighischen Gefäße bis zur Einpflanzung des Dünndarms ins Rektum hin. Die Flagellaten erwiesen sich bei der Untersuchung im Ausstrich in der größten Menge, als die sog. kleinen Trypanosomen von Swellengrebel und Strickland. Der Versuchsfloh 8, dessen Darm eingebettet und geschnitten wurde, zeigte das Flagellatenpolster ebenfalls im ganzen Dünndarm, im Rektum dagegen nicht. Die Untersuchung der Schnitte im gefärbten Präparat ergab, daß es sich wirklich um Trypanosomen und nicht um Ruhestadien der *Leptomonas ctenocephali* handelte, weil die Flagellaten viel länger gestrekt sind und den Blepharoplast nach dem Darmlumen hin zeigten, während er bei der *Leptomonas*-Infektion der Wand des Dünndarmes zu gelegen

ist. 3 weitere Versuche wurden mit den gefesselten Hundeflöhen 9 und 10 und mit dem gefesselten Hühnerfloh Nr. 3 durchgeführt. Diese 3 Flöhe sogen am 10., 11. und 12. II. 14 auf der am 24. XI. 13 intraperitoneal gespritzten Ratte Nr. 2, die sich also im chronischen Infektionsstadium befand, aber im Blute noch ziemlich viele Trypanosomen zeigte. An den folgenden Tagen wurden die Flöhe auf nicht infizierten Ratten gefüttert und am 16. II. 14 zerlegt und genau untersucht. Die Versuchsflöhe 9 und 10 zeigten wohl eine schwache Infektion mit *Leptomonas ctenocephali*, aber keine kleinen Trypanosomen in ihrem Dünndarme. Der Hühnerfloh 3 zeigte in seinem Dünndarme überhaupt keine Flagellaten. Obgleich also diese Flöhe dreimal gesogen hatten, zeigten sie ebenso wie einige weitere Flöhe, die auch auf Ratte 2 in gleicher Weise gefüttert worden waren, bei ihrer Sektion keine Infektionen mit *Trypanosoma lewisi*, während es bei frischer 8tägiger Infektion durch einen einstündigen, einmaligen Saugakt bei den Versuchsflöhen 6, 7 und 8 gelungen war, eine Infektion des Flohes zu erzeugen. Dieses Versuchsergebnis spricht deutlich dafür, daß die Infektion der Flöhe am besten gelingt, wenn sich die Ratte noch im frischen Infektionsstadium befindet und daß ähnlich wie bei meinen Versuchen mit dem Froschtrypanosoma es auch bei chronischer Infektion der Ratte viel schwerer gelingt, den Überträger zu infizieren. Wahrscheinlich liegen bei den durch Glossinen übertragenen Trypanosomen ähnliche Verhältnisse vor und es wäre von Interesse, wenn jene Überträger der pathogenen Trypanosomen auch in dieser Hinsicht einmal untersucht würden.

2. Nachträge zu der nichtinfektiösen Periode.

Durch Minchin und Thomson war gezeigt worden, daß die Flöhe nach dem infizierenden Saugakte eine Zeit von ungefähr 6 Tagen brauchen, ehe sie die Ratten, auf denen sie sitzen, infizieren können. Für diese Periode, die nach meinen Untersuchungen in besonders günstigen Fällen nur 4 Tage betragen kann, hatte ich 1912 die Erklärung gegeben, daß die Trypanosomen sich im Dünndarme des Flohes erst so weit vermehren müßten, bis sie auf den Dünndarmwänden ein richtiges Polster bilden, das der Kotentleerung einen gewissen Widerstand entgegensetzt. Erst, wenn dieses Polster gebildet ist, was nach 4—6 Tagen geschehen ist, werden mit dem Kot stets große Massen von Trypanosomen losgerissen und gelangen nach außen auf die Ratte, von deren Zungenschleimhaut aus sie dann in den Rattenkörper eintreten. Während sich ein Referat im Sleeping

Sickness Bulletin Bd. 4, H. 38 über diese Erklärungsweise sehr skeptisch aussprach, ist diese Erklärung jedoch im Jahre 1912 noch durch WENYON angenommen worden. Ich habe schon 1912 darauf hingewiesen, daß der kritische Zeitpunkt für die Infektion des Flohes ungefähr in der 24. Stunde nach dem infizierenden Saugakte liegt. Während der Magen dann in der Regel schon von den Trypanosomen gereinigt wird, bleiben im Floh nur die Trypanosomen, denen es gelungen ist, sich im Dünndarm festzuheften. Ihre Zahl kann zu diesem Zeitpunkte außerordentlich klein sein. Bei einem damals in Berlin zerlegten Floh fand ich nur im Rektum 3 angeheftete Trypanosomenexemplare, im ganzen Dünndarm nichts. In München habe ich einen Floh zu jenem Zeitpunkte zerlegt, welcher in der Mitte des Dünndarmes im ganzen nur 2 angeheftete Trypanosomen zeigte. Erst wenn deren Vermehrung nun soweit fortgeschritten ist, daß die Trypanosomen ein dickes Polster auf der Dünndarmwand bilden, werden sie mit dem Kote ausgeschieden. Daß dieses Polster in der Tat schon am 6. Tage eine ziemlich große Ausdehnung erreichen kann, mögen die beigegebenen Mikrophotogramme vom Versuchsfloh Nr. 8 beweisen (Taf. 2 Fig. 5 u. 6).

Wenn auch eine Entscheidung darüber, ob erst die Trypanosomen sich anheften können, welche im Epithel des Magens eine intracelluläre Vermehrung durchgemacht haben, nicht direkt möglich ist, so bin ich neuerdings doch der Ansicht geworden, daß die von MINCHIN und THOMSON entdeckte intracelluläre Vermehrungsweise der Trypanosomen im Magenepithel diese für die Anheftung dadurch geeignet macht, daß sie ihre Oberfläche klebrig macht.

---

2. Die Übertragung der Rattentrypanosomen durch die Rattenlaus *Haematopinus spinolusus* BURM.

Die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen ist vor allem durch v. PROWAZEK (1905), BALDREY (1909), MANTEUFEL (1910), GONDER (1912) und nach mündlichen Mitteilungen von BENSEN und JOLLOS untersucht worden. V. PROWAZEK gibt 1905 an, daß die Trypanosomen im Magen der Laus eine geschlechtliche Entwicklung durchmachen. Kompaktere dickere Formen sollen mit schlanken Formen mit auseinandergezogenem Kerne verschmelzen und aus der Verschmelzung soll ein geißelloser Ookinet hervorgehen. Die Formen sind von PROWAZEK gut abgebildet worden. Im späteren Verlaufe

soll es in der Laus zur Bildung von leptomonasartigen Flagellaten kommen; eine intracelluläre Vermehrung wurde im Magen nicht beobachtet. Dagegen beschreibt Prowazek eingehend die Stellen, an denen sich die Flagellaten im Enddarme der Laus in großen Mengen anzusammeln pflegen. Aus der Beobachtung, daß von diesen Stellen aus die Flagellaten manchmal bei fortgesetzter Beobachtung der Laus unter dem Mikroskope verschwinden können, schließt er, daß die Trypanosomen durch die Darmwand in die Leibeshöhle der Laus hinüberwandern können und glaubt, daß die Infektion dadurch geschieht, daß die Trypanosomen aus dem Blutgefäßsystem der Laus beim Stechakte in den Pharynx durchbrechen und in die Stechwunde gelangen können. Die experimentelle Übertragung der Rattentrypanosomen durch Läuse ist v. Prowazek nicht gelungen. Baldrey hat 1909 mit Läusen Serienversuche nach den Angaben Hartmann's im Institute für Infektionskrankheiten zu Berlin mit Rattentrypanosomen durchgeführt und es ist ihm in der Tat bei Verwendung mehrerer Läuse mehrfach gelungen, eine Übertragung der Trypanosomen zu erzielen. Die Übertragung gelang nur bei den Ratten, auf die er die Läuse erst nach Ablauf von 5—10 Tagen nach dem Saugakte auf infizierten Ratten setzte. Die Entwicklungsformen, die v. Prowazek beschrieben hatte, sah er zum Teil wieder und bildet auch wieder ein „Befruchtungsstadium“ ab. Er gibt an, daß sich die Entwicklungsformen in der Laus nur vorfinden, wenn sich die Ratte noch nicht im chronischen Stadium der Typanosomeninfektion befindet. Im chronischen Stadium findet nach ihm eine Entwicklung in der Laus nicht statt. Manteufel hat dann 1910 versucht, durch Läusekot die Trypanosomen zu übertragen, ohne daß es ihm jedoch gelang. Rodenwaldt hat, nachdem Swellengrebel und Strickland das Vorkommen der Entwicklungsformen in der Laus angezweifelt hatten, die Frage daraufhin durchgeprüft und es ist ihm gelungen, alle v. Prowazek gefundenen Entwicklungsformen wieder zu sehen. Er gibt davon auf mehreren Tafeln eine Reihe von Abbildungen. Gonder hat 1912 die Rattentrypanosomen unter 50 Versuchen mit je 60—100 Läusen sechsmal übertragen und zwar nur nach Ablauf der von Baldrey angegebenen nicht infektiösen Periode, d. h. nachdem die Läuse 5—10 Tage vorher das letztemal auf infizierten Ratten gesogen hatten, danach nur auf gesunden Ratten. Über den Übertragungsmechanismus macht er keine Angaben, schließt sich aber an die Erklärungen Prowazek's und Baldrey's an, indem er das Vorhandensein einer geschlechtlichen Entwicklung verficht. Er gibt an, daß man mit

Läuseemulsion auch in den ersten Tagen Ratten infizieren kann, während nach mehr als 20 Tagen nach dem infizierenden Saugakte Infektionen mit Läusen nicht mehr möglich sind. Mit gleichem Erfolge wie durch Baldrey sind späterhin auch durch Bensen und Jollos positive Übertragungsversuche mit Läusen vorgenommen worden (mündl. Mitteilung).

Eigene Untersuchungen über die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen durch Läuse.

1. Das Vorkommen von Entwicklungsformen.

Nachdem die v. Prowazek als Entwicklungsformen bezeichneten vom Rattentrypanosoma aus dem Rattenblute abweichenden Formen von Baldrey u. Rodenwaldt wiedergesehen worden waren, fiel es mir nicht schwer auch fast sämtliche der von jenen Autoren gesehenen Formen in der Laus wieder aufzufinden. Zu meinen Versuchen wählte ich stark verlauste und nicht mit Trypanosomen infizierte Ratten, die durch intraperitoneale Einspritzungen infiziert wurden. Es zeigte sich bald, daß, wie schon Baldrey angibt, das Vorkommen von Entwicklungsformen in der Laus auf bestimmte Infektionsstadien der Ratte beschränkt ist. Während es mir bei Ratten mit über 2 Monate alter Infektion nicht gelang, in der Laus die Entwicklungsformen zu finden, traf ich sie in großer Menge besonders in den Läusen von Ratten, die vor 8—14 Tagen mit Trypanosomen gespritzt worden waren. Eine Befruchtung im Leben zu verfolgen, ist mir bis heute nicht gelungen. Die Beobachtung im Leben bildet jedoch für das Vorhandensein einer Befruchtung die unerläßliche Vorbedingung und solange es keinem Forscher einwandfrei gelungen ist, die Verschmelzung und nachfolgende Teilungen bei Trypanosomen im Überträger einwandfrei zu verfolgen, bleibt die Frage nach dem Vorkommen eines Geschlechtsaktes bei den Trypanosomen ungelöst. Bis heute sind überzeugende Beweise dafür nicht erbracht worden. Was die Morphologie der sog. Entwicklungsformen anbetrifft, so finden sich im Läusemagen sowohl bei frisch von der Ratte abgelesenen Läusen, wie auch bei Läusen, die schon 24—48 Stunden gehungert haben, neben den am häufigsten vorkommenden unveränderten Trypanosomen ohne Schwierigkeit alle jene wieder, die v. Prowazek u. Rodenwaldt abgebildet haben. Besonders häufig tritt anfangs eine lange schlanke Form auf, deren Kern zum Blepharoplast hin nach hinten oder sogar noch über den Blepharoplast hinausrückt, so daß also eine echte

Crithidiaform entsteht. Dann finden sich auch leptomonasartig gebaute Flagellaten ohne deutliche undulierende Membran und auch ovale Formen, welche keine Spur von der Geißel mehr zeigen. Daß die Leptomonas- und Crithidiaformen wirklich von den Trypanosomen abzuleiten sind und nicht, wie Patton meinte, von eigenen Flagellaten der Laus, geht daraus hervor, daß es mir bisher ebensowenig wie Rodenwaldt u. Baldrey gelungen ist, in Läusen von nichtinfizierten Ratten oder von chronisch infizierten irgend welche derartige Flagellaten aufzufinden.

2. Wo finden sich die Trypanosomen in der Laus?

Da bei den Übertragungsversuchen mit Läusen die von mir bei den Flöhen angewandte Methode der Einzelbeobachtung und Einzeluntersuchung des Überträgers nicht durchführbar war, weil die Infektionsversuche überhaupt nur mit großen Mengen von Läusen und auch dann nur ausnahmsweise gelingen (Gonder braucht für einen gelungenen Übertragungsversuch durchschnittlich 480—800 Läuse), so war ich um eine Klärung des Übertragungsmechanismus herbeizuführen, auf die Untersuchung von unter verschiedenen Bedingungen von der Ratte abgesammelten Läusen angewiesen. Da sich die sehr kleinen und außerordentlich durchsichtigen Läusemännchen unter dem Mikroskop ohne Schwierigkeit auch mit den stärksten Vergrößerungen untersuchen lassen, so gelang die Feststellung des Sitzes der Flagellaten leicht. Läuse von Ratten mit sehr alter Infektion zeigten in ihrem Magen und Dünndarm in der Regel überhaupt keine Flagellaten. Läuse von Ratten mit nur 8—14 Tage alter Infektion, zeigten dagegen die Trypanosomen stets in großer Menge, und zwar genau an den Stellen, die v. Prowazek in seiner ausführlichen Arbeit angegeben hat. Der Magen schwärmte von Trypanosomen und zwar in allen seinen der Wand zu gelegenen Teilen. Besondere Anhäufungen fanden sich manchmal am Mageneingange, wenn dort das Blut schon aufgelöst war. Im ektodermalen Enddarme fanden sich die Trypanosomen frei beweglich im Lumen des Ileum, Colon und Rektum bis hinter den Rektaldrüsen. Besonders wimmelte meist die Pylorusgegend. Hier bildeten die Flagellaten, wie das v. Prowazek angibt, oft einen wimmelnden Schwarm. Eine dauernde Festheftung konnte ich jedoch auch hier nicht verfolgen. In den Stechwerkzeugen der Laus habe ich nie Trypanosomen auffinden können, ebensowenig im Blute nichtverletzter Läuse. Wie nun die Trypanosomen aus der Laus nach außen gelangen, zeigte mir schon die Lebendbeobachtung unter

dem Mikroskope. Man kann bei Läusemännchen sehr oft beobachten, wie mit den Kontraktionswellen des Enddarmes die Trypanosomen von einer Stelle zur anderen geführt werden. Die Beobachtung erkärt ohne weiteres die Beobachtung v. Prowazek's, der gesehen hatte, daß die im Dünndarme sich ansammelnden Trypanosomen gelegentlich verschwinden. Einmal gelang es mir auch unter dem Mikroskope die Kotabgabe der Laus zu beobachten, und mit den in die umgebende physiologische Kochsalzlösung hinausgeschwemmten Kotpartikelchen sah ich dabei die Trypanosomen ausgestoßen werden. Noch einfacher kann man sich davon überzeugen, daß die Läuse mit ihrem Kote Typanosomen abgeben, wenn man einige Läuse von infizierten Ratten zwischen einen Objektträger und einen hohl geschliffenen Objektträger über Nacht zusammensperrt. Am anderen Tage haben die Läuse auf den Objektträger stets mehrere Kotröpfchen abgegeben, die bei der Untersuchung im Giemsatrockenpräparate fast stets Trypanosomen zeigen. Wenn Manteufel und mir bisher eine experimentelle Infektion mit den Kotröpfchen noch nicht gelungen ist, so dürfte das nur daran liegen, daß die außerordentlich kleinen Kotröpfchen der Laus fast augenblicklich nach ihrer Abgabe trocknen, wobei die Trypanosomen naturgemäß absterben. Immerhin werden weitere Versuche später schließlich auch hier positive Ergebnisse zeitigen. Daß die Übertragung durch Läuse aber nur durch den Kot und eventuell durch Verschlucken der Läuse geschehen kann und nicht durch den Stechakt, ist mir nach diesen Ergebnissen sicher, da sich in den Stechwerkzeugen bei den Läusen nie Trypanosomen auffinden lassen und für das Vorkommen einer Regurgitation der Trypanosomen aus dem Läusemagen nicht der geringste Beweis vorliegt.

Wie verhält es sich nun mit den Angaben v. Prowazek's über das Vorkommen von Trypanosomen in der Leibeshöhle und im Blutgefäßsytem der Laus? Da dort v. Prowazek mit aller Sicherheit Trypanosomen im Schnitt und im Leben nachgewiesen haben will, so waren mir diese Angaben eine Nachprüfung wert. Nachdem ich lange vergeblich nach Trypanosomen im Blutgefäßsystem der Laus gesucht hatte, gelang mir vor kurzem mit einem Male die Beobachtung derselben. Eine Laus, deren Magen an einer Stelle eine kleine Verletzung, die sich kaum bei guter Untersuchung, auffinden ließ, aufwies, zeigte die Trypanosomen überall in der Leibeshöhle einzeln und lebhaft beweglich, im ganzen Thorax, im Kopfe und selbst in den proximalen Fühlergliedern. Daß die Trypanosomen aber wirklich nur durch eine Verletzung des Magens nach außen gelangt waren,

bewies der Umstand, daß sich im Abdomen neben dem Magen an einer Stelle einige Rattenblutkörperchen auffinden ließen. Mit dieser Beobachtung glaube ich die Befunde Prowazek's und die zahlreichen weiteren Angaben anderer Autoren (Chagas, Kleine) erklären zu können. Bei der Schwierigkeit, die kleinen Rattenläuse mit der Pinzette so zu fassen, daß sie nicht verletzt werden, dürften Verletzungen des Magens nicht allzu selten vorkommen, wenn auch ihr Nachweis besonders im Schnitt oft nicht gelingt. In dieser Weise dürfte sich auch die Beobachtung Schaudinns erklären, der bei seinen Untersuchungen über die Übertragungsweise der Trypanosomen des Steinkauzes angibt, daß gelegentlich der Enddarm an der Colonkrümmung von den Trypanosomen durchbrochen wird, die so in das Blutgefäßsystem der Mücke gelangen. Da er durch die Einführung der Trypanosomen aus dem Saugmagen der Mücke beim Beginn des Saugaktes eine brauchbare Erklärung gegeben hat, so dürfte das Vorkommen eines Enddarmrisses nur ein zufälliges sein und für den normalen Übertragungsmechanismus sicherlich keine Bedeutung gewinnen, besonders da der Eintritt aus dem Blutgefäßsystem in den Pharynx noch nicht bewiesen ist.

Da bisher bei allen untersuchten Trypanosomen sich im Überträger die Parasiten nur innerhalb des Darmkanales oder in den durch offene Ausführungsgänge mit ihm verbundenen Anhängseln (Speicheldrüsen) vorfinden, so haben alle Katastrophentheorien, welche einen Durchbruch in die Leibeshöhle annehmen, etwas Gezwungenes an sich, solange nicht in einwandfreier Weise bei irgendeinem Trypanosoma ihr Vorkommen angegeben wird.

3. Wie lange halten sich die Trypanosomen in der Laus?

Für die Beantwortung, ob die Laus wirklich nach der Aufnahme von Trypanosomen eine dauernde Infektion erwirbt, ist es von Interesse, zu wissen, wie lange sich die Trypanosomen im Darmkanale der Laus halten, wenn sie inzwischen nur mit nicht infiziertem Rattenblute gefüttert wird. Zu diesem Zwecke habe ich eine Anzahl Versuche mit Mäusen angestellt, auf die ich eine Anzahl Läuse von infizierten Ratten setzte. Doch sind alle diese Versuche fehlgeschlagen, weil die Mäuse in der Regel schon am nächsten Tage alle aufgesetzten Läuse gefressen haben. Bessere Erfolge hatten Versuche mit läusefreien Ratten, auf die ich von infizierten und verlausten Ratten in der Sonne eine größere Menge von Läusen überwandern ließ. Die infizierten Ratten befanden sich am 6. und 7. Tage

der Infektion; trotzdem gelang mir in den zwei und mehr Tage darauf von den neuen Ratten abgelesenen Läusen der Nachweis der Trypanosomen nicht mehr. Bei hungernden Läusen konnte ich dagegen 48 Stunden nach der Abnahme von der Ratte noch massenhaft Trypanosomen im Magen auffinden. Wenn Gonder die Trypanosomen in der Laus noch am 20. Tage nach der Abnahme von den infizierten Ratten nachweisen konnte, so muß ich annehmen, daß er unter besonders günstigen Bedingungen seine Versuche durchgeführt hat. Da er aber angibt, daß er späterhin mit den Läusen nicht infizieren konnte, so liegt darin auch bei Gonder das Zugeständnis, daß die Läuse keine dauernde Infektion erwerben. Da wir aber nach unseren heutigen Kenntnissen von der Trypanosomenübertragung wissen, daß sich die wahren Trypanosomenüberträger für lange Zeit, meist sogar für ihr ganzes Leben infizieren, so kann demnach die Rattenlaus als echter Überträger für das Rattentrypanosoma nicht bezeichnet werden, und die Entwicklungsformen, die sich in der Rattenlaus beobachten lassen, sind teils als Degenerationsformen, teils als eine Art Kulturform aufzufassen, die sich bei der Lebenderhaltung der Rattentrypanosomen in der Laus vorfinden. Daß selbst eine 20tägige Lebenderhaltung in der Laus noch nicht im Sinne einer Entwicklung gedeutet zu werden braucht, geht schon daraus hervor, daß sich die Rattentrypanosomen im Rattenblute unter besonders günstigen Aufbewahrungsbedingungen wochenlang am Leben erhalten lassen. Für die von Baldrey und Gonder bei ihren Infektionsversuchen beobachtete nicht infektiöse Periode kann ich freilich nach meinen bisherigen Untersuchungen eine Erklärung noch nicht geben.

Da die mit dem Kote der infizierten Flöhe ausgeschiedenen Trypanosomen eine sehr hohe Steigerung ihrer Infektionsfähigkeit zeigen, so wäre bei der Laus, falls sie ein echter Überträger des Rattentrypanosomas wäre, in dem eine Entwicklung vorkommt, auch hier eine Virulenzsteigerung zu erwarten. Das ist aber bei der Schwierigkeit, mit Läusen zu infizieren, sicher nicht der Fall, denn während bei den Flöhen ein einziges trypanosomenhaltiges Kottröpfchen genügt, um durch die gesunde Schleimhaut der Zunge hindurch eine Infektion herbeizuführen, sind für jeden Übertragungsversuch mit Läusen sehr große Mengen derselben nötig.

---

3. Übertragungsversuche durch andere blutsaugende Insekten.

Brumpt hat 1913 festgestellt, daß sich das Rattentrypanosoma auch durch den Kot der Bettwanze übertragen läßt, nachdem sie vorher Trypanosomen aufgenommen hat. Obgleich es ihm gelungen ist, mit dem Rektalinhalte einer Wanze Ratten zu infizieren, die vor 6 Tagen das letztemal infiziertes Rattenblut aufgenommen hatte, stellt er jedoch fest, daß die Wanzen nicht mehr infizieren können, sobald die in ihrem Darmkanal befindlichen Trypanosomen eine von ihrer gewöhnlichen Form abweichende Gestalt angenommen haben, glaubt aber trotzdem, daß eine wirkliche Entwicklung stattgefunden habe („il y avait eu certainement une évolution cyclique totale chez cette punaise“[?]). Doch macht er über die angebliche Entwicklung der Trypanosomen in der Wanze überhaupt keine brauchbaren Angaben.

Eigene Untersuchungen.

Da mir im Winter hier genügend Bettwanzen zu meinen Versuchen nicht zur Verfügung standen, versuchte ich das Verhalten der Rattentrypanosomen in der Kuhstallfliege (*Stomoxys calcitrans*) und in der Schaflausfliege, der sog. Schaflaus (*Melophagus ovinus*) zu untersuchen. Die Wadenstecher starben in dem geheizten Zimmer im Winter meist schon in den nächsten Tagen ab, so daß ich mit ihnen längere Serienversuche nicht durchführen konnte. Diejenigen Exemplare, welche Blut gesogen hatten (und zwar von Ratten mit nicht über 14 Tage alter Infektion) zeigten bei der Zerlegung nach 24 Stunden in ihrem Magen keine Trypanosomen mehr. (Die Zimmertemperatur betrug durchschnittlich 25° C bei Tage.)

Die Schafläuse haben für die Übertragungsversuche den Nachteil, daß sie alle schon mit einem trypanosomenähnlichen Flagellaten mit deutlicher undulierender Membran, der *Crithidia melophagia* Flu, infiziert sind. Die Aufzucht flagellatenfreier Exemplare aus Puppen gelang mir im Winter nicht, während sie mir im Sommer ebenso wie Chatton, Delanoe und Cauchemez mehrfach gelungen ist. Da sich die Schaflaus nach Brumpt wochenlang von Menschenblut und Taubenblut nähren läßt, so war zu erwarten, daß sie auf Ratten ebenso leicht Blut aufnehmen würde. Und in der Tat gelingt es ohne weiteres, Schafläuse, welche 24 Stunden lang gehungert haben, auf den festgespannten Ratten zur Blutaufnahme zu bewegen. Die Schafläuse wurden im Zimmer in einem großen Glase auf entfetteter Watte aufbewahrt. An den Deckel des Glases wurde ein Wasser-

tropfen gebracht, damit der Raum die nötige Luftfeuchtigkeit besaß. Die Fütterung geschah auf festgespannten Ratten, auf denen die Schafläuse jeden Tag eine bis zwei Stunden saugen durften. Daß sie wirklich Blut aufnehmen, zeigt schon die Färbung der vorderen Darmabschnitte, die durch die Chitinhülle des Abdomens sichtbar sind und nach der Blutaufnahme eine hellrote Färbung zeigen, während sie vorher dunkelrot bis schwarz erscheinen. Auch gelingt es leicht, bei den saugenden Schafläusen während des Saugaktes Darmkontraktionen zu sehen.

Die Schafläuse Nr. 1—4 wurden am 2. und 3. Februar 1914 auf der Ratte Nr. 6 gefüttert, die am 26. Januar 1914 mit Rattentrypanosomen intraperitoneal gespritzt worden war und in deren Blute sich zahlreiche Teilungsformen neben ausgewachsenen Trypanosomen fanden. Am 4. Februar sogen die Schafläuse auf einer gesunden Ratte, am 5. Februar wurden sie zerlegt, der Darmkanal herauspräpariert, in physiologischer Kochsalzlösung zerzupft und diese Flüssigkeit wurde zur Hälfte der Ratte Nr. 7 intraperitoneal und der Ratte Nr. 8 subkutan eingespritzt. Von den beiden Ratten zeigte die Ratte Nr. 7 am 14. II. zahlreiche Trypanosomen im Blute, während sie am 11. II. noch keine gezeigt hatte. Ein weiterer Versuch wurde mit ungefähr 15 Schafläusen begonnen, die am 4. II. auf einer Ratte sogen, die 10 Täge vorher mit Rattentrypanosomen intraperitoneal gespritzt worden war. Am 5. sogen sie auf der Ratte Nr. 6 (mit ebenfalls 10tägiger Infektion). An den folgenden Tagen sogen die Schafläuse auf gesunden Ratten bis zum 9. II. 1914; am 10. II. wurden die überlebenden 4 zerlegt, ihr Darmkanal herauspräpariert, in physiologischer Kochsalzlösung zerzupft und zwei Ratten intraperitoneal eingespritzt. In einem Ausstriche von diesem Tage fanden sich in den Schafläusen nur die typischen Schaflauscrithidien; von Trypanosomen war nichts mehr aufzufinden. Die beiden mit dem Darminhalt gespritzten Ratten blieben daher auch trypanosomenfrei.

Bei Schafläusen dagegen, welche länger als 24 Stunden auf infizierten Ratten gesessen und dabei Blut gesogen haben, finden sich in den vorderen Darmabschnitten unveränderte und in interessanter Weise abgeänderte Trypanosomenformen, vor allem nämlich Tiere mit abgerundetem Hinterende, deren Kern ein wenig nach dem Blepharoplaste zu wandert. So gewinnen diese Formen Ähnlichkeit mit den von Kleine aus den Glossinen beschriebenen Übergangsformen zu den sog. männlichen Formen des Schlafkrankheitserregers. In den nächsten Tagen wird eine Unterscheidung der

Trypanosomen von den Schaflauscrithidien unmöglich, so daß ich bisher über die Dauer des Vorkommens von Trypanosomen in Schafläusen, die mit infiziertem Rattenblute genährt wurden, keine genauen Angaben machen kann. Da aber die Infektionsversuche späterhin nicht mehr gelingen, so ist es wahrscheinlich, daß die abweichenden Trypanosomenformen nur absterbende Tiere sind.

Eine Infektion durch den Stich der Schafläuse wurde auch in den ersten Tagen nicht beobachtet. Alle Ratten, auf denen die Schafläuse nach ihrem infizierenden Saugakte sogen, sind trypanosomenfrei geblieben.

---

4. Versuch einer Einteilung der Trypanosomen nach ihrer Übertragungsweise.[1])

Bei der Schwierigkeit oder Unmöglichkeit, die Trypanosomen nach rein morphologischen Gesichtspunkten einzuteilen, haben Roubaud und nach ihm Duke bereits für die pathogenen durch Glossinen übertragenen Trypanosomen eine Einteilung nach ihrer Übertragungsweise vorgeschlagen. Nachdem im vorhergehenden gezeigt worden ist, daß auch die Rattentrypanosomen im Floh eine gesetzmäßige Entwicklung durchmachen, und daß die anderen als Überträger in Frage gezogenen Insekten als echte Überträger nicht bezeichnet werden können, soll hier der Versuch gemacht werden, die Trypanosomen in ihrer Gesamtheit von dem Gesichtspunkte ihrer Entwicklung im Überträger einzuteilen.[2]) Bekanntlich hat Brumpt zu-

[1]) Diese Einteilung soll dazu anregen, das Verhalten im Überträger mehr als bisher mit zur Trennung der einzelnen Trypanosomenarten heranzuziehen. Natürlich dürfen dabei die anderen Merkmale wie Morphologie und Tierpathogenität nicht vernachlässigt werden.

[2]) Die Frage, ob ein Trypanosoma in ganz verschiedenen (nicht zu derselben Gruppe) gehörigen Blutsaugern eine echte Entwicklung durchmachen kann, ist bisher noch nicht genug geklärt. Das *Schizotrypanum cruzi* „entwickelt“ sich nach Brumpt und Neiva außer in den als natürliche Überträger anzusehenden Wanzenarten (Reduviiden und Cimiciden) auch in Zecken (*Ornithodorus moubata* und *Rhipicephalus sanguineus*). Ob aber die angebliche Entwicklung in den Zecken wirklich als eine gesetzmäßige Entwicklung aufzufassen ist oder als bloße Lebenderhaltung, darüber geben die mangelhaften Angaben Brumpt's keinen Aufschluß. Ebenso fraglich ist es nach den kurzen und ungenügenden Angaben Brumpt's, ob die Bettwanze das Rattentrypanosoma in ihrem Darmkanal nur am Leben erhält oder ob wirklich eine Entwicklung vorkommt, für die aber noch

erst die Ansicht vertreten, daß die Trypanosomen von Leptomonaden und Crithidien, also spezifischen Insektenparasiten, die Trypanosomen der Kaltblütler von parasitischen Flagellaten der Egel abzuleiten sind. Er fand in einem Egel *Helobdella algira* ein *Trypanosoma* (*T. inopinatum*), das sich ohne Zwischenschaltung des Wirbeltierwirtes, des Wasserfrosches, auf die Nachkommenschaft des Egels vererben kann. Hier spielt also der Egel die Rolle des Hauptwirtes, das Wirbeltier nur die Rolle eines entbehrlichen Nebenwirtes. Leider sind diese wichtigen Feststellungen in neuerer Zeit nicht nachgeprüft worden, was dringend nötig wäre, weil dieser Befund einen wichtigen Beweisgrund für die Ableitung der Trypanosomen von Parasiten der blutsaugenden Wirbellosen bildet. Der Theorie von Brumpt gegenüber steht die, welche in den Trypanosomen und Trypanosomenähnlichen primäre Parasiten der Wirbeltiere sieht, die sich erst sekundär an den wirbellosen Überträger angepaßt haben (Minchin). Heute hat die erste Theorie die meiste Wahrscheinlichkeit, wenn auch das *Trypanosoma equiperdum* zu seiner normalen Verbreitung überhaupt keines Überträgers bedarf.

Die neueren Forschungen haben immer mehr gezeigt, daß die Trypanosomen nicht artspezifisch an den wirbellosen Überträger angepaßt sind, wie man ursprünglich in Analogie mit den intracellulären Blutprotozoen anzunehmen geneigt war. So entwickeln sich, wie besonders die Forschungen Kleine's und seiner Mitarbeiter zeigen, die menschenpathogenen Trypanosomen in verschiedenen Glossinen, die Rattentrypanosomen, wie auseinandergesetzt, in verschiedenen Floharten usw. Doch sind die Überträger, in denen eine Entwicklung stattfindet, auf enge Gruppen von Blutsaugern verteilt, so daß eine Einteilung nach der Entwicklung im Überträger wohl möglich ist.

Wenn wir versuchen die Trypanosomen nach ihrer Entwicklung im Überträger einzuteilen, so lassen sich zwanglos folgende Gruppen unterscheiden:

1. Die durch Egel übertragenen Trypanosomen;
   a) die Gruppe des *Trypanosoma inopinatum;* dieses Trypanosoma ist ein echter Parasit des Egels *Helobdella*, auf dessen Nachkommenschaft er sich nach Brumpt vererben kann;

---

kein Beweis vorliegt. Die Rattenlaus kommt, wie ich auseinandersetzte, als echter Überträger nicht in Frage. Nur Flöhe sind bisher als echte Überträger erwiesen.

b) auf die Nachkommen der Egel nicht vererbbare Trypanosomen.
1. Die Trypanosomen der Meeresfische und der Schildkröten, deren erste Teilung im Egel im abgekugelten geißellosen Zustande verläuft (BRUMPT, ROBERTSON).
2. Die Trypanosomen der Süßwasserfische und wahrscheinlich auch die Trypanosomen der Kaulquappen (Anuren)[1]) und Molche (Urodelen), deren erste Teilung im Egel im geißeltragenden Zustande verläuft.

Die durch Egel übertragenen Trypanosomen entwickeln sich im Magen (oder im Magen und Darm) des Egels und dringen nach Ablauf der Vermehrungsperiode in die Rüsselscheide vor. Die Infektion des Wirbeltieres geschieht beim Saugakte durch Einpressen der Rüsselscheidentrypanosomen in die Saugwunde.

2. Durch Arthropoden übertragene Trypanosomen. Von den Arthropoden sind nur die Insekten und zwar hier Flöhe, Wanzen und Zweiflügler[2]) als Trypanosomenüberträger mit Sicherheit bekannt geworden. Die Flagellaten, welche aus blutsaugenden Milben (Zecken) bekannt geworden sind (*Tryp. christophersi* NOVY, *Crithidia haemophysalidis* PATTON und *Cr. hyalommae* O'FARRELL), sind wahrscheinlich spezifische Zeckenparasiten. Die von GONDER in der Milbe *Leiognathus* aufgefundenen angeblichen Entwicklungsstadien der Fledermaustrypanosomen sehen viel eher wie Degenerationsformen aus.

2a) Die durch Flöhe übertragenen Trypanosomen. Zu dieser Gruppe (*Lewisi*-Gruppe) gehören:

Tryp. lewisi (NÖLLER 1912),
Tryp. criceti (NÖLLER 1912),
Tryp. Duttoni, Nabiasi, Blanchardi (BRUMPT 1913)

und wahrscheinlich die

Tryp. talpae, vespertilionis und *pestanai.*

Die durch Flöhe übertragenen Trypanosomen entwickeln sich in der Regel leicht in verschiedenen Floharten; ihre Ansiedlung im Überträger erfolgt in dem ektodermalen Enddarme. Die Übertragung

---

[1]) Die ersten Teilungen im Überträger wurden bei Amphibientrypanosomen noch nicht beobachtet.

[2]) Läuse sind als Überträger, in denen eine echte Trypanosomenentwicklung stattfindet, noch nicht erwiesen. Sie können höchstens als mechanische Verbreiter von Trypanosomen in Frage kommen: *Haematopinus spinulosus* beim Rattentrypanosoma und *Haematopinus bituberculatus* nach MITZMAIN beim Surratrypanosoma (*T. evansi*).

geschieht durch mit dem Kote ausgeschiedene Trypanosomen. Speicheldrüseninfektion findet nicht statt.

2b) Die durch Wanzen übertragenen Trypanosomen (die Schizotrypanumgruppe) *Schizotrypanum Cruzi*. Die Infektion kann hier den ganzen Darm des Überträgers ergreifen, den ektodermalen Vorderdarm, den Mitteldarm und den ektodermalen Enddarm. Die Speicheldrüsen können infiziert werden (Chagas), doch ist auch eine Infektion durch den abgegebenen Kot möglich (Brumpt).

2c) Die durch Dipteren übertragenen Trypanosomen. Von den Dipteren werden die meisten afrikanischen, asiatischen und amerikanischen pathogenen Trypanosomenarten übertragen. Die durch Glossinen übertragenen und genau erforschten Trypanosomen hat Roubaud bereits nach ihrer Übertragungsweise eingeteilt:

Eine Infektion des Darmes und des Stechrüssels erzeugen im Überträger (Zusammenstellung nach Duke):

Tryp. congolense,
Tryp. pecorum,
Tryp. nanum,
Tryp. pecaudi = *T. brucei*.

Nur den Darm und die Speicheldrüsen infizieren:

Tryp. gambiense,
Tryp. rhodesiense.

Nur den Rüssel infizieren:

Tryp. vivax,
Tryp. uniforme,
Tryp. cazalboui.

Über die Übertragungsweise der wahrscheinlich durch Tabaniden übertragenen nicht pathogenen Rindertrypanosomen, der wahrscheinlich durch Mücken übertragenen Vogeltrypanosomen und der vielleicht durch Glossinen übertragenen Krokodiltrypanosomen, ist bisher genaueres nicht bekannt geworden, so daß deren Einordnung in das System nicht möglich ist.[1])

---

[1]) Nach meiner Ansicht ist es trotz der Angaben von Kleine und Taute noch zweifelhaft, ob die Krokodiltrypanosomen durch Glossinen übertragen werden, da ja auf den Krokodilen auch Egel vorkommen (*Placobdella* spec.). Daß ja das wahrscheinlich durch Mücken übertragene *Tryp. gallinarum* in Glossinen eine Art abortiver Entwicklung durchmachen kann, ist durch Duke und Robertson festgestellt worden. Diese Tatsache ist bei der sehr leichten Kultivierbarkeit der Kaltblütler- und Vogeltrypanosomen nicht allzu verwunderlich. Über die Übertragung der Schlangentrypanosomen ist noch nichts bekannt geworden.

2d) An die in den Glossinen nur den Rüssel infizierenden Trypanosomen lassen sich als nächste Gruppe diejenigen anschließen, welche durch blutsaugende Dipteren wahrscheinlich rein mechanisch übertragen werden. Es sind dies die Erreger der Surra und des Mal de Caderas. [*Trypanosoma evansi* (*Tryp. soudanense*) und *Tryp. equinum.*]

3) Als dritte Hauptgruppe lassen sich an die rein mechanischen übertragenen Trypanosomen zwanglos die Trypanosomen anschließen, welche eines wirbellosen Überträgers nicht bedürfen. Hierher gehört nur *Trypanosoma equiperdum*, der Erreger der Beschälseuche der Pferde, dessen rein mechanische Übertragung durch *Stomoxys calcitrans* experimentell möglich ist (Schuberg und Kuhn).

Auf eine Einordnung der Kalar-Azar-Parasiten in dieses System muß Verzicht geleistet werden, da über deren Übertragung zur Zeit noch nichts bekannt geworden ist. Die parasitisch im Milchsafte von Euphorbiaceen lebenden und durch Wanzen übertragenen trypanosomenähnlichen Flagellaten mögen hier nur kurz erwähnt werden.

Schlußsätze.

1. Das Vorhandensein einer nicht infektiösen Periode bildet keinen Beweis für eine geschlechtliche Entwickelung der Trypanosomen im Überträger.

2. Der Hundefloh überträgt die Rattentrypanosomen nach Ablauf einer nicht infektiösen Periode durch seine Fäces, die von der Ratte abgelekt werden.

3. Es ist mir nicht gelungen, eine Infektion durch den bloßen Stechakt hervorzurufen.

4. Eine Infektion der Speicheldrüsen habe ich bei den infektiösen Hundeflöhen bisher nicht beobachtet.

5. Flöhe infizieren sich auf frischinfizierter Ratte leichter als auf Ratten mit chronischer Trypanosomeninfektion.

6. Der Hühnerfloh kann vom Rattenblute wochenlang leben. Als brauchbarer Überträger für das Rattentrypanosoma kommt er nicht in Betracht, da er während des Saugens meist keinen oder nur wenig Kot abgibt.

7. Die von Prowazek, Baldrey und Rodenwaldt gesehenen „Entwicklungsformen" des Rattentrypanosomas in der Rattenlaus lassen sich ohne Schwierigkeiten nachweisen, wenn man Läuse von Ratten untersucht, die in den ersten Wochen der Trypanosomeninfektion stehen.

8. Da bei den Rattenläusen nach Abnahme von den infizierten Ratten die Infektionsfähigkeit bald (nach Gonder erst nach 20 Tagen) erlischt, kann die Rattenlaus als echter Überträger des Rattentrypanosomas nicht bezeichnet werden, sofern man mit dem Begriffe des echten Überträgers das Vorkommen einer Entwicklung in ihm verbindet.

9. Die Rattenlaus scheidet mit ihrem Kote Typanosomen aus.

10. In der Leibeshöhle infizierter Rattenläuse kommen Trypanosomen nur nach Verletzung des Darmkanales vor.

11. Eine dauernde Festheftung der Trypanosomen in der Rattenlaus, wie sie zur Erzeugung einer dauernden Infektion bei der Laus notwendig wäre, findet nicht statt.

12. In der Schaflausfliege, die wochenlang auf Ratten gefüttert werden kann, hält sich das Rattentrypanosoma bei $+25^0$ C über zwei Tage am Leben, auch wenn die Schaflaus inzwischen Blut nicht infizierter Ratten aufgenommen hat. Späterhin lassen sich in den Schafläusen Trypanosomen nicht mehr nachweisen. Nach 24 Stunden treten in der Schaflaus Trypanosomen auf, die an die von Kleine abgebildeten Übergangsformen zu den sog. männlichen Trypanosomen aus den Glossinen erinnern.

13. *Leptomonas ctenocephali* kommt auch bei den Larven des Hundeflohes vor.

14. An anderen parasitischen Protozoen beim Hundefloh wurden beobachtet:

Malpighiella refringens Minchin,
Nosema pulicis Nöller;

bei den Hundeflohlarven die Gregarine *Actinocephalus parvus* Wellmer. die wahrscheinlich von Hühnerflohlarven herstammte.

15. An parasitischen Protozoen beim Hühnerfloh und beim Taubenfloh wurden beobachtet:

Leptomonas spec.,

die im Enddarme erwachsener Flöhe und der Larven sehr häufig vorkommt;

Legerella parva Nöller 1913

in den malpighischen Gefäßen erwachsener Flöhe;

Actinocephalus parvus Wellmer

im Darme aller untersuchten Larven.

Nach Abschluß meiner Arbeit danke ich allen den Herren, welche meine Arbeit ermöglicht oder gefördert haben. Herrn Prof. Dr. HARTMANN, Berlin bin ich zum Danke verpflichtet für die Ratschläge und Unterweisungen, die er mir während meines Aufenthaltes als freiwilliger Hilfsarbeiter im Protozoenlaboratorium des Institutes für Infektionskrankheiten „Robert Koch" gab. Herrn Prof. Dr. KITT, dem Leiter des Pathologischen Institutes und der Seuchenversuchsstation der Münchener Tierärztlichen Hochschule danke ich für die freundliche Aufnahme und weitgehende Unterstützung im Pathologischen Institute, für das freundliche Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte und insbesondere für die Einführung in die Microphotographie. Herrn Assistenten HOBMAIER danke ich für die Herstellung des größten Teiles der beigegebenen Photographien und Microphotogramme und für die freundliche Hilfe bei vielen technischen Arbeiten. Allen den Herren, die mir Sonderabdrücke von Arbeiten des betreffenden Gebietes zugesandt haben oder mit mir in Austausch getreten sind, sei auch hier gedankt. Der Vorteil einer umfangreichen Sammlung von Sonderabzügen kommt erst da recht zum Bewußtsein, wo die Bibliotheksverhältnisse zu wünschen übrig lassen.

Literaturverzeichnis.

ASHWORTH, J. H. and RETTIE, T. (1912): On a Gregarine-Steinina rotundata nov. sp. — present in the mid-gut of bird-fleas of the genus Ceratophyllus. Proc. of the Royal Soc. Ser. B. Bd. 86 S. 31, 38.

BALDREY (1909): Versuche und Beobachtungen über die Entwicklung von Trypanosoma lewisi in der Rattenlaus. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 S. 326.

BALFOUR, A. (1905): A haemogregarine of Mammals. Journ. of Trop. Med. Bd. 8 S. 241—244.

— (1906): Herpetomonas Parasites in fleas. Journ. of Hyg. Bd. 6 S. 652—655.

BASILE, C. (1911): Sulla Leishmaniosi e sul suo modo di transmissione. Rendiconti della R. Accademia dei Lincei Bd. 20, 19. März, 18. Juni.

BONNET-EYMARD, M. G. (1900): Sur l'évolution de l'Eimeria nova (Schneider). C. R. de la Soc. de Biol. Bd. 52.

BOUET, G. et ROUBAUD, E. (1912): Expériences de transmission des trypanosomiases par les stomoxes. Bull. Soc. Path. exot. Bd. 5 S. 544.

BRUMPT, E. (1907): De l'hérédité des infections à Trypanosomes et à Trypanoplasmes chez les hôtes intermédiaires. C. R. de la Soc. de Biol. Bd. 63 S. 176—178.

— (1908): De l'origine des Hémoflagellés du sang des Vertébrés. Daselbst Bd. 64 S. 1046.

— (1912): Le Trypanosoma cruzi évolue chez Conorhinus megistus, Cimex lectularius. Cimex boueti et Ornithodorus moubata. Cycle évolutif de ce parasite. Bull. de la Soc. de Pathol. Exot. Bd. 5 S. 360—364. 12. Juni 1912.

— (1912): Pénétration du Schizotrypanum cruzi à travers la muqueuse oculaire saine. Daselbst Bd. 5 S. 724—725. 13. November 1912.

— (1913): Evolution de Trypanosoma lewisi, duttoni, nabiasi, blanchardi chez les puces et les punaises. Transmission par les déjections. Comparaison avec T. cruzi. Rôle régulateur des hôtes intermédiaires. Daselbst Bd. 6 S. 167—177. 12. März 1913.

BRUMPT, E. et GONZALEZ-LUGO (1913): Présentation d'une Reduvide du Vénézuela, le Rhodnius prolixus, chez lequel évolue Trypanosoma cruzi. Daselbst Bd. 6 S. 381—383.

BRUMPT, E. et PIRAJA DA SILVA (1912): Existence du Schizotryp. cruzi CHAGAS 1909 à Bahia (Batta de Sao Joao). Daselbst Bd. 5 S. 22—26. 10. Jan. 1912.

CAUCHEMEZ, L. (1912): Recherches sur la transmission héréditaire de Crithidia melophagi FLU. C. R. de la Soc. de Biol. Bd. 72 S. 1062—1064.

CHATTON, E. et DELANOE, P. (1912): Leptomonas Pattoni (Swingle) et Tryp. lewisi chez l'adulte et chez la larve de Ceratophyllus fasciatus. Daselbst Bd. 73 S. 291—294.

Chagas, C. (1909): Über eine neue Trypanosomiasis des Menschen. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz Bd. 1.

Cuénot, L. (1902): Legerella testiculi nov. sp., parasite du testicule de Glomeris. Arch. de Zool. expér. et génér. 3. Ser. Bd. 10 S. 49—53.

Doflein, F. (1911): Lehrbuch der Protozoenkunde. 3. Aufl. Jena (G. Fischer).

Duke, H. L. (1912): Observations on fowls and ducks in Uganda with relation to Tryp. gallinarum and Tryp. gambiense. Proc. Roy. Soc. Ser. B Bd. 85 S. 378.

— (1914): Wild game as a trypanosome reservoir in the Uganda Protectorate. Arch. f. Protistenk. Bd. 32 S. 393—406.

Eckard, B. (1913): Übertragung des Tryp. rhodesiense durch Glossina palpalis. Centralbl. f. Bakt. I. Abt. (Orig.) Bd. 72 S. 73—76.

Eysell, A. (1913): Die Krankheitserreger und Krankheitsüberträger unter den Arthropoden. in: Mense, C., Handb. d. Tropenkrankh. 2. Aufl. 1. Bd.

Fantham, H. B. (1912): Some insect flagellates and the problem of the transmission of Leishmania. Kongreßber. d. 18. Jahresversamml. d. Brit. Med. Assoc. zu Liverpool 19.—26. Juli 1912. The Brit. Med. Journ. 2. Nov. 1912 S. 1196—1197.

— (1913): Note on the specific name of the Herpetomonas found in the dog-flea, Ctenocephalus canis. Bull. Soc. de Pathol. Exot. Bd. 6 S. 254.

França, C. (1914): La flagellose des Euphorbes. Arch. f. Protistenk. Bd. 34 S 108.

Friedrichs, K. (1913): Die neuere, insbesondere die medizinische Literatur über Aphaniptera (bis April 1912). Zeitschr. f. wiss. Ins. Biol. Bd. 9 S. 272.

Gabbi, U. (1913): Über den Ursprung der Leishmaniosis interna (Kala-Azar) vom Hunde. Zentralbl. f. Bakteriol. I. Abt. (Orig.) Bd. 69 S. 504—516.

Gonder, R. (1910): Trypanosoma vespertilionis (Battaglia). Daselbst Bd. 53 S. 293—302.

— (1912): Untersuchungen über arzneifeste Microorganismen. I. Trypanosoma lewisi. Daselbst Bd. 61 S. 102.

Harms, B. (1911): Zur Naturgeschichte der Flöhe. Med. Klin. Jahrg. 1911 Nr. 35.

— (1912): Untersuchungen über die Larve von Ctenocephalus canis Curtis. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 80 I. Abt. S. 167—216.

Hartmann, M. u. Chagas, C. (1910): Vorläufige Mitteilung über Untersuchungen an Schlangenhämogregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 20.

Kleine, F. K. u. Taute, M. (1911): Ergänzungen zu unseren Trypanosamenstudien. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 31 S. 321.

Kleine, F. K. u. Eckard, B. (1913): Über die Bedeutung der Speicheldrüseninfektion bei der Schlafkrankheitsfliege. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 74 S. 183—187.

Kolle u. Wassermann (1912—1913): Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Jena. 2. Aufl.

Lafont, A. (1911): Sur la transmission de Leptomonas davidi des Euphorbes par un hémiptère, Nysius euphorbiae. C. R. de la Soc. de Biol. Bd. 70 S. 58/59.

Landois, L. (1866): Anatomie des Hundeflohes (Pulex canis Dugès). Nova acta Acad. Leop. Carol. Bd. 33.

Laveran, A. et Franchini, G. (1913): Trypanosoma talpae chez Palaeopsylla gracilis (Tschb.). C. R. de la Soc. de Biol. Bd. 74 S. 1254.

— — (1913): Infections expérimentales de Mammifères par des flagellés du tube digestif de Ctenocephalus canis. C. R. Acad. des Sci. Be. 157. 1. Sept.; 3. Nov.

Laveran, A. et Franchini, G. (1914): Infection naturelle du rat et de la souris au moyen de puces de rat parasitées par Herpetomonas Pattoni. C. R. Acad. des Sci. Bd. 158 No. 7; 16. Febr. 1914; S. 450—453.

Laveran, A. et Mesnil, F. (1912): Trypanosomes et Trypanosomiases. 2. Aufl. Paris.

Leese, A. S. (1912): Biting flies and surra. Journ. of trop. veterinary Science Bd. 7 S. 19—32.

Léger, L. (1911): Caryospora simplex, Coccidie monosporée et la classification des Coccidies. Arch. f. Protistenk. Bd. 22 S. 71—88.

Mackinnon, D. L. (1909): Note on two new Flagellate Parasites in fleas Herpetomonas ctenophtalmi n. sp. and Crithidia hystrichopsyllae n. sp. Parasitology Bd. 2 S. 288—296.

Manteufel (1910): Studien über die Trypanosomiasis der Ratten mit Berücksichtigung der Übertragung unter den natürlichen Verhältnissen und der Immunität. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 33 S. 46.

Marzocchi (1911): Di un flagellato parassita del tubo del digerente del Ctenocephalus canis L. Pathologica 1911, Juni, S. 256—257.

Mesnil, F. (1912): Modes de propagation des Trypanosomes. Les Tryp. chez l'hôte invertébré. Bull. de l'Inst. Pasteur Bd. 10 S. 1—32.

— (1913): Hémiptères des euphorbes parasitées de Leptomonas davidi. Bull. Soc. Pathol. exot. Bd. 6 S. 292.

Minchin, E. A. (1910): On some parasites observed in the rat-flea (Ceratophyllus fasciatus). Festschr. z. 60. Geburtstage Richard Hertwig's Bd. 1 S. 291.

— (1912): An Introduction to the Study of the Protozoa with special reference to the parasitic forms. London (E. Arnold).

Minchin, E. A. and Thomson (1910): The transmission of Trypanosoma lewisi by the rat-flea (Ceratophyllus fasciatus). (Preliminary communication.) Proc. of the Royal Soc. Ser. B. Bd. 82.

— — (1911): The transmission of Trypanosoma lewisi by the rat-flea (Ceratophyllus fasciatus). Brit. Med. Journ. 3. Juni 1911.

— — (1911): On the occurence of an intracellular stage in the development of Trypanosoma lewisi in the rat-flea. (Preliminary note.) Daselbst 19. Aug. 1911.

Mitzmain, M. B. (1912): Collected notes on the insect transmission of surra in carabaos. The Philippine Agricult. Review.

Neiva, A. (1913): Transmissâo do Tryp. cruzi pelo Rhipicephalus sanguineus Lah. Brazil Medico. 8. Dez. 1913.

Nicoll, W. and Minchin, E. A. (1911): On two species of Cysticercoids from the rat-flea (Ceratophyllus fasciatus). Proc. of the Zool. Soc. of London, März 1910.

Nöller, W. (1912): Über Blutprotozoen einheimischer Nagetiere und ihre Übertragung. Vortrag vor der Berliner mikrobiologischen Gesellschaft am 13. Februar 1912. Sitz.-Ber. in der Berl. klin. Wochenschr. 1912 Nr. 11 S. 524, 11. März.

— (1912): Die Blutprotozoen des Hamsters (Cricetus frumentarius Pall.) und ihre Übertragung. Arch. f. Protistenk. Bd. 25 S. 377—385.

— (1912): Die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen durch Flöhe. Arch. f. Protistenk. Bd. 25 S. 386—424, 17. Mai 1912.

— (1913): Die Blutprotozoen des Wasserfrosches und ihre Übertragung. I. Teil. Arch. f. Protistenk. Bd. 31 S. 169—240.

Nöller, W. (1913): Die blutsaugenden Insekten als Krankheitsüberträger. Monatshefte f. prakt. Tierheilk. Bd. 25 S. 68—90.

Nuttall, G. H. F. (1908): The transmission of Trypanosoma lewisi by fleas and lice. Parasitology Bd. 1 S. 296.

O'Farell, W. R. (1913): Preliminary note on a new flagellate, Crithidia hyalommae n. sp., found in the tick Hyalomma aegypticum (Linnaeus 1748). Journ. of trop. med. and hygiene Bd. 16 S. 245/46.

Otten, L. (1913): Beschouwingen omtrent verbreiding en besmettings-wijze van pest, in verband met waarneming en proefondervindelijk onderzoek op Java. Inaug.-Diss. Amsterdam, J. H. de Bussy. (Viel Literatur.)

Patton, W. S. (1908): Herpetomonas in Ctenocephalus felis. Annual Report upon the Work of the bact. settlem. of the King Institute. Madras.

— (1909): The life-cycle of a species of Crithidia parasitic in the Intestinal Tracts of Tabanus hilarius and Tabanus sp.? Arch. f. Protistenk. Bd. 15 S. 333—362.

— (1912): Spirochaeta ctenocephali in the Indian dog-flea Ctenocephalus felis. Annals of Trop. Med. and Parasit. Liverpool. Bd. 6 S. 357.

— (1912): The development of the parasite of Indian Kala-Azar. Scientific Memoirs by Officers of the Medical and Sanit. Departments of the Government of India. No. 53 S. 11.

Patton, W. S. and Strickland, C. (1908): A critical review of the relation of blood-sucking invertebrates to the life-cycle of Trypanosomes of Vertebrates. Parasitology Bd. 1 S. 322.

— — (1909): A critical review of our present knowledge of haemoflagellates and allied forms. Daselbst Bd. 2 S. 81.

Porter, A. (1911): The structure and life-history of Crithidia pulicis n. sp., parasitic in the alimentary tract of the human flea, Pulex irritans. Daselbst Bd. 4 S. 327.

Pricolo, A. (1906): Le Trypanosome de la souris. Centralbl. f. Bakt. I. Abt. (Orig.) Bd. 42 S. 231.

Prowazek, S. v. (1905): Studien über Säugetiertrypanosomen. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 22 S. 351.

— (1911—1914): Handbuch der pathogenen Protozoen. Leipzig.

Rabinowitsch, L. u. Kempner, W. (1899): Beitrag zur Kenntnis der Blutparasiten, speziell der Rattentrypanomen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 30 S. 251.

Reichenow, E. (1912): Die Hämogregarinen. In Prowazek's Handbuch der pathogenen Protozoen Bd. 2. Leipzig 1912.

— (1913): Caryolysus lacertae, ein wirtwechselndes Coccidium der Eidechse Lacerta muralis und der Milbe Liponyssus saurarum. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 45 S. 317—363.

Robertson, M. (1909): Studies on Ceylon Haematozoa. I. Quart. Journ. of Micr. Sci. Bd. 53 S. 665.

— (1909): Further notes on a Trypanosoma found in Pontobdella muricata. Daselbst Bd. 54 S. 119.

— (1911): Transmission of flagellates living in the blood of certain freshwater-fishes. Philosoph. transact. of the Royal Soc. of London Ser. B. Bd. 202 S. 29—50.

Robertson, M. (1912): Notes on the life-history of Trypanosoma gambiense. Proc. of the Roy. Soc. Ser. B Bd. 86 S. 66—71.

— (1912): Notes on the polymorphism of Trypanosoma gambiense in the blood and its relation to the exogenous cycle in Glossina palpalis. Daselbst Bd. 85 S. 527—539.

— (1913): Notes on the life-history of Trypanosoma gambiense. Philos. transact. of the Royal Soc. of London Ser. B Bd. 203.

Rodenwaldt, E. (1909): Trypanosoma lewisi in Haematopinus spinulosus. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. (Orig.) Bd. 52 S. 30—42.

Ross, R. H. (1909): A Gregarine parasitic in the dog-flea. Ann. of trop. med. and parasit. Bd. 2 S. 359—363. Liverpool 1909.

Roubaud, E. (1913): Evolution comparée des trypanosomes pathogènes chez les glossines. Bull. Soc. Pathol. exot. Bd. 6 S. 435.

Sangiorgi, G. (1911): Sulla presenza di forme di Leishmania infantum nella pulce (Pulex serraticeps) dei cani randagi di Catania. Pathologica Bd. 3. 15. Januar 1911.

— (1911): Experimentelle Untersuchungen über die Übertragung der Protozoenblutparasiten durch Cimex lectularius. Centralbl. f. Bakt. I. Abt. (Orig.) Bd. 57 S. 81—84.

Schaudinn, F. (1904): Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochaeta. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 20.

Schellack, C. (1913): Coccidien-Untersuchungen. II. Die Entwicklung von Adelina dimidiata A. Schn., einem Coccidium aus Scolopendra cingulata Latr. Daselbst Bd. 45 S. 269—316.

Schuberg, A. u. Kuhn, P. (1911/1912): Über die Übertragung von Krankheiten durch einheimische stechende Insekten. Daselbst Bd. 31 (1911), Bd. 40 (1912).

Scordo (1913): Über die Frage der Übertragbarkeit des Kala-Azar durch einige blutsaugende Insekten. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. (Orig.) Bd. 70 S. 307—321.

— (1913): Über einige Infektionsversuche der Anopheles mit dem Milzsafte von Leishmaniakranken. Daselbst Bd. 60 S. 36—41.

Sergent, Edm. et Ét. (1907): Études sur les Hématozoaires des oiseaux. Ann. de l'Institut Pasteur Bd. 21 S. 270.

— (1912): Rôle des chiens et des chats dans la transmission de la Leishmaniose infantile. Bull. Soc. de Path. exot. Bd. 5.

Sergent, Edm. et Ét., L'Héritier et Lemaire, G. (1912): Transmission de Leishmania de chien à chien par piqûres de Pulex serraticeps. Daselbst Bd. 5 S. 595.

Siedlecki, M. (1899): Etude cytologique et cycle évolutif de Adelea ovata Schn. Ann. de l'Inst. Pasteur.

Strickland, C. (1909): On the supposed development of Trypanosoma lewisi in lice and fleas. Parasitology Bd. 2 S. 81.

— (1911): The mechanism of transmission of Trypanosoma lewisi from rat to rat by the rat-flea. Brit. Med. Journ. 6. Mai 1911.

— (1912): Agrippina bona n. g., n. sp. Parasitology Bd. 5.

Strickland, C. and Swellengrebel, N. H. (1910): Notes of Trypanosoma lewisi and its relation to certain arthropoda. Daselbst Bd. 3 S. 436.

Swellengrebel, N. H. and Strickland, C. (1910): The development of Trypanosoma lewisi outside the vertebrate host. Daselbst Bd. 3 S. 360.

Swingle, L. D. (1911): The transmission of Trypanosoma lewisi by rat-fleas (Ceratophyllus sp. and Pulex sp.), with short descriptions of three new herpetomonads. The Journ. of Infect. Diseases Bd. 8 S. 125.

Tiraboschi (1904): Die Bedeutung der Ratten und Flöhe für die Verbreitung der Bubonenpest. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 48.

Todd, J. L. (1909): A note on recent tryp. transmission experiments. The Journ. of Trop. med. and hyg. Bd. 12 No. 17.

Wellmer (1911): Sporozoen ostpreußischer Arthropoden. Schriften der Physikal.-Ökonom. Ges. zu Königsberg, 52. Jahrg.

Wenyon, C. M. (1912): Some critical remarks on Capt. Patton's report on Oriental Sore. The Journ. of the London School of Trop. Med. Bd. 1 S. 211—214.

— (1912): Experiments on the behaviour of Leishmania and allied flagellates in bugs and fleas, with some remarks on previous work. Daselbst Bd. 2 S. 13—26.

— (1912): Observations on the natural flagellates of fleas, including a confirmation of Nöller's important results on the transmission of Trypanosoma lewisi by the dog-flea. Report of the Advisory Committee for the Tropical Diseases Research. Report of the Protozoologist to the London School of Tropical Medicine.

— (1913): Observations on Herpetomonas muscae domesticae and some allied flagellates. Arch. f. Protistenk. Bd. 31 S. 1—36.

— (1913): Experiments on the transmission of Trypanosoma lewisi by means of fleas. The Journ. of the London School. of Trop. Med. Bd. 2 S. 119—123.

Wolffhügel, K. (1910): Die Flöhe (Siphonaptera) der Haustiere. Zeitschr. f. Infektionskrankheiten, parasitäre Krankheiten und Hygiene der Haustiere Bd. 8 S. 218—236 u. 354—382.

Außerdem enthalten viel Trypanosomenliteratur die Zeitschriften:

Bibliographia Zoologica.
Bulletin de l'Institut Pasteur.
Centralblatt f. Bakteriologie . . . 1. Abt. Ref.
Sleeping Sickness Bulletin (jetzt Tropical Diseases Bulletin).
Tropical Veterinary Bulletin.

Tafelerklärung.

Die sechs Mikrophotogramme sind mit Zeiss Apochromat 2 mm und Projektionsokular 4 aufgenommen worden.

Tafel 1.

Fig. 1. Querschnitt durch den Dünndarm eines mit *Leptomonas* spec. infizierten Hühnerflohes. 500 ×. Schnitt unmittelbar hinter der Einmündung der Malpighischen Gefäße.

Fig. 2. Längsschnitt durch den Dünndarm eines mit *Leptomonas* spec. infizierten Hühnerflohes. 500 ×.

Tafel 2.

Fig. 3. Sporen von *Nosema pulicis*. Ausstrich. Heidenhain-Färbung. 450 ×.

Fig. 4. *Nosema pulicis* in den Epithelzellen des Hundeflohmagens. Schnitt.

Fig. 5. Trypanosomenrasen im Dünndarm eines Hundeflohes (sechs Tage nach dem infizierenden Saugakte auf einer *Lewisi*-Ratte. Versuchsfloh 8 (1914)). 500 ×. Schnitt kurz hinter der Einmündung der Malpighi'schen Gefäße. Eisenhämatoxylin nach Rosenbusch.

Fig. 6. Trypanosomenpolster im Dünndarme desselben Hundeflohes. 400 ×. Schnitt an der Einmündung des Dünndarmes in das Rektum. Hämatoxylin nach Delafield.



G. Pätz'sche Buchdr. Lippert & Co. G. m. b. H., Naumburg a. d. S.



Fig. 1.

Fig. 2.

M. Hobmaier und W. Nöller phot.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

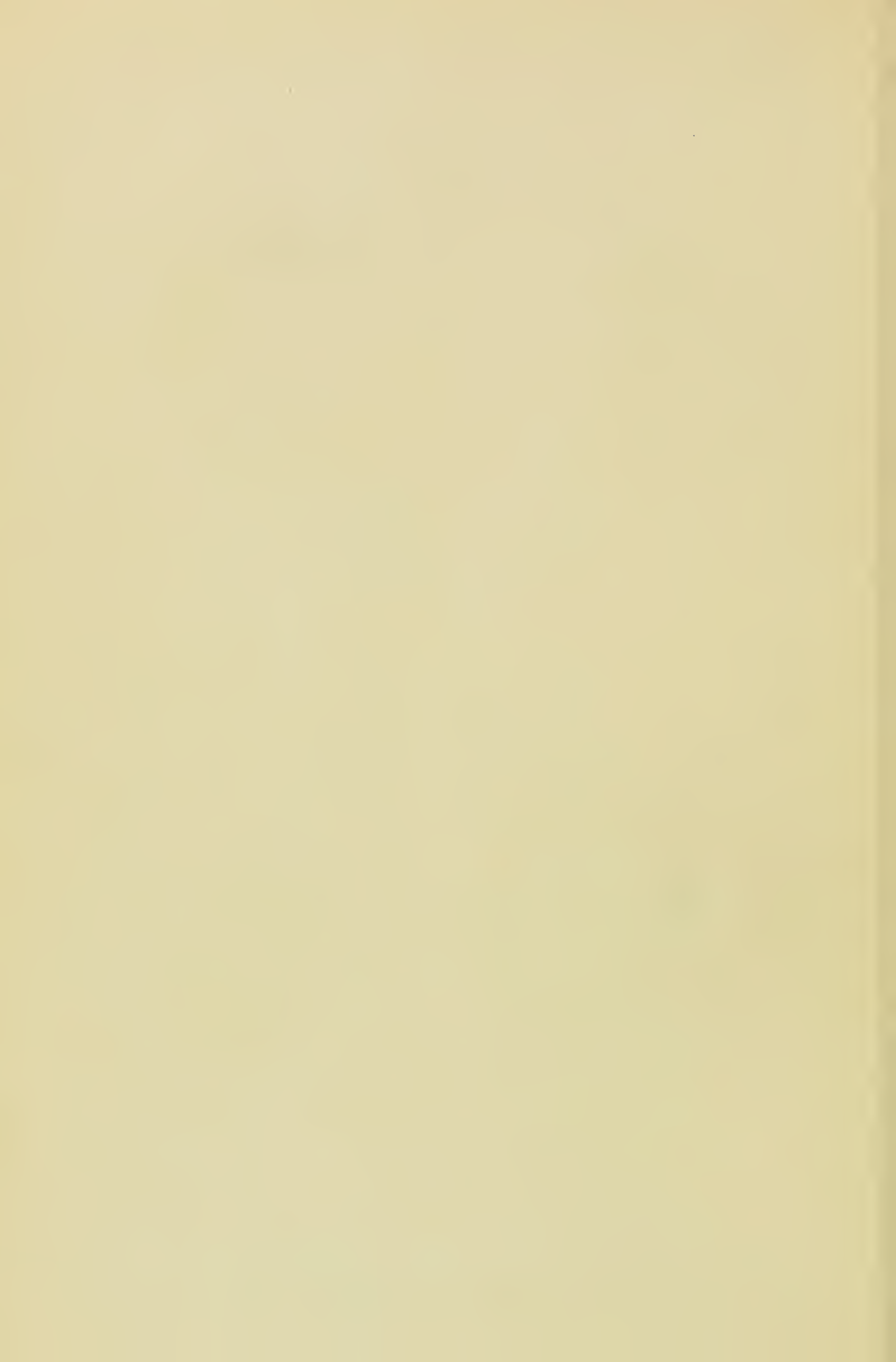




Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

M. Hobmaier und W. Nöller phot.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**



G. Pätz'sche Buchdr. Lippert & Co. G. m. b. H., Naumburg a. d. S.